

# **Verlauf und Einflussfaktoren der Immuntoleranztherapie bei Hämophilie A Patienten mit Hemmkörperbildung**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

Bernhard Adrian Bailer  
aus Tübingen

2013

Angefertigt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. J. Oldenburg
2. Gutachter: Prof. Dr. med. D. Dilloo

Tag der Mündlichen Prüfung: 17.07.2013

Aus dem Institut für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin,  
Universitätsklinikum Bonn  
Direktor: Prof. Dr. med. J. Oldenburg



## Inhaltsverzeichnis

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. Abkürzungsverzeichnis und Glossar.....</b>   | <b>8</b>  |
| <b>2. Einleitung.....</b>  | <b>9</b>  |
| 2.1 Allgemeines .....  | 9         |
| 2.2 Die Geschichte der Hämophilie.....   | 11        |
| 2.3 Die Hämophilie-Erkrankung: Genetik und Klinik.....   | 11        |
| 2.4 Die Therapie der Hämophilie A .....  | 13        |
| 2.5 Komplikationen der Hämophilie Behandlung.....  | 14        |
| 2.6 Pathogenese der Hemmkörperentwicklung und Risikofaktoren für eine<br>Hemmkörperbildung ..... | 15        |
| 2.7 Der Hemmkörper und seine klinischen Auswirkungen .....                                       | 17        |
| 2.8 Behandlungsmethoden des Hemmkörpers .....  | 19        |
| 2.9 Die Geschichte der Entwicklung des Bonn Protokolls .....                                     | 21        |
| 2.10 Einflussfaktoren auf den Erfolg und Dauer der Immuntoleranztherapie.....                    | 23        |
| 2.11 Zielsetzung .....   | 23        |
| <b>3. Methoden, Patienten und Material .....</b>   | <b>25</b> |
| 3.1 Das Bonner Hämophilie-Zentrums .....   | 25        |
| 3.2 Dokumentation und Datengewinnung .....   | 26        |
| 3.3 Analyseparameter.....  | 27        |
| 3.4 Definitionen und Erklärung der erhobenen Parameter .....                                     | 28        |
| 3.4.1 Die Immuntoleranztherapie.....   | 28        |
| 3.4.2 Erfolgs- bzw. Misserfolgskriterien für die Immuntoleranztherapie .....                     | 28        |
| 3.4.3 Zeitabschnitte der Immuntoleranztherapie .....   | 29        |
| 3.4.4 Patientencompliance .....  | 30        |
| 3.4.5 Faktor VIII-Präparate mit oder ohne vWF .....  | 31        |
| 3.4.6 Plasmatische und rekombinante Präparate .....  | 31        |
| 3.4.7 Der Hemmkörper .....   | 32        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.4.8 Blutungen .....   | 32        |
| 3.4.9 Intravasale Kathetersysteme .....   | 33        |
| 3.4.10 Krankenhausaufenthalte .....   | 34        |
| 3.4.11 Hepatitis-B-Impfung.....   | 34        |
| 3.5 Einschlusskriterien .....   | 34        |
| 3.6 Kollektiv- und Subgruppenbildung .....  | 35        |
| 3.7 Art der Studie.....   | 37        |
| 3.8 Methoden der statistischen Analyse.....   | 38        |
| <b>4. Ergebnisse.....</b>   | <b>40</b> |
| 4.1 Erfolg und Dauer in den einzelnen (Sub)Gruppen.....                                     | 40        |
| 4.2 Die Zeitabschnitte der Immuntoleranztherapie .....                                      | 43        |
| 4.2.1 Deskriptive Statistik der Zeitabschnitte t2, t3 und t4.....                           | 43        |
| 4.2.2 Der Einfluss von t1 auf die Dauer und den Erfolg der<br>Immuntoleranztherapie.....    | 44        |
| 4.3 Die Patientencompliance .....   | 45        |
| 4.3.1 Einfluss der Patientencompliance auf den Therapieerfolg .....                         | 46        |
| 4.3.2 Einfluss der Patientencompliance auf die Therapie-Dauer.....                          | 47        |
| 4.4 Von-Willebrand-Faktor haltige Präparate/ Von-Willebrand-Faktor freie<br>Präparate ..... | 48        |
| 4.4.1 Einfluss eines vWF-haltigen Präparates auf den Therapieerfolg.....                    | 48        |
| 4.4.2 Einfluss eines vWF-haltigen Präparates auf die Therapiedauer.....                     | 48        |
| 4.5 Plasmatische Faktor VIII Präparate/ rekombinante Faktor VIII Präparate .....            | 49        |
| 4.5.1 Einfluss eines rekombinanten FVIII Präparat auf den Therapieerfolg .....              | 49        |
| 4.5.2 Einfluss eines rekombinanten FVIII Präparat auf die Therapiedauer .....               | 50        |
| 4.6 Der Hemmkörper .....  | 51        |
| 4.6.1 Einfluss des höchsten Hemmkörpertiters auf den Therapieerfolg .....                   | 52        |
| 4.6.2 Einfluss des höchsten Hemmkörpertiters auf die Therapiedauer .....                    | 53        |
| 4.6.3 Einfluss des Hemmkörpertiters zu Therapiebeginn auf den Therapieerfolg ..             | 54        |
| 4.6.4 Einfluss des Hemmkörpertiters zu Therapiebeginn auf die Therapiedauer ...             | 55        |

|   |    |
|---|----|
| 4.6.5 Einfluss des Booster-Effekts auf den Therapieerfolg und Therapiedauer.....                              | 55 |
| 4.7 Die für die Hämophilie A verantwortlichen Mutationen .....  | 57 |
| 4.7.1 Einfluss der Mutationsart auf den Erfolg der Immuntoleranztherapie .....                                | 57 |
| 4.7.2 Einfluss der Mutationsart auf die Dauer der Immuntoleranztherapie .....                                 | 58 |
| 4.8 Blutungen während der Immuntoleranztherapie .....   | 59 |
| 4.8.1 Blutungsinzidenz bei High- und Low-Respondern .....   | 59 |
| 4.8.2 Blutungen in unterschiedlichen Therapiephasen .....   | 60 |
| 4.8.3 Einfluss der Blutungen auf den Therapieerfolg .....   | 60 |
| 4.8.4 Einfluss der Blutungen auf die Therapiedauer .....  | 63 |
| 4.9 Das intravasale Kathetersystem .....  | 64 |
| 4.9.1 Einfluss eines intravasalen Kathetersystems auf den Therapieerfolg .....                                | 64 |
| 4.9.2 Einfluss eines intravasalen Kathetersystems auf die Therapiedauer .....                                 | 65 |
| 4.10 Anzahl Krankenhausaufenthalte .....  | 67 |
| 4.10.1 Einfluss der Anzahl an Krankenhausaufenthalten auf den Therapieerfolg ...                              | 68 |
| 4.10.2 Einfluss der Anzahl an Krankenhausaufenthalten auf die Therapiedauer ....                              | 69 |
| 4.11 Der Einsatz von Bypassing-Produkten während der Immuntoleranztherapie ...                                | 70 |
| 4.11.1 Der Zusammenhang zwischen Bypassing-Produkten und dem<br>Therapieerfolg .....                          | 70 |
| 4.11.2 Der Zusammenhang zwischen Bypassing-Produkten und der<br>Therapiedauer .....                           | 72 |
| 4.11.3 Der Einsatz der Bypassing-Produkte in Abhängigkeit vom<br>Hemmkörperspiegel .....                      | 73 |
| 4.12 Der Therapieerfolg und die Therapiedauer im Bonner Hämophilie-Zentrum<br>vor und ab 1990 .....           | 74 |
| 4.13 Hepatitis B, Hepatitis C, HIV und Hepatitis-B-Impfung während der<br>Immuntoleranztherapie .....         | 76 |
| 4.13.1 Prävalenz von Hepatitis B, Hepatitis C und HIV im Gesamtkollektiv .....                                | 76 |
| 4.13.2 Einfluss von HIV, Hepatitis B, Hepatitis C und der Hepatitis-B-Impfung<br>auf den Therapieerfolg ..... | 77 |

|   |            |
|---|------------|
| 4.13.3 Einfluss von HIV, Hepatitis B, Hepatitis C und der Hepatitis-B-Impfung auf die Therapiedauer ..... | 77         |
| 4.14 Das Alter zu Beginn der Immuntoleranztherapie .....  | 79         |
| 4.14.1 Einfluss des Alters bei ITT Beginn auf den Erfolg der Immuntoleranztherapie .....                  | 79         |
| 4.14.2 Einfluss des Alters bei ITT Beginn auf die Therapiedauer .....                                     | 79         |
| 4.15 Multivariate Analyse der Einflussparameter .....   | 80         |
| <b>5. Diskussion .....</b>  | <b>83</b>  |
| 5.1 Erfolg und Dauer in den einzelnen (Sub)Gruppen.....   | 83         |
| 5.2 Die Zeitabschnitte der Immuntoleranztherapie .....  | 85         |
| 5.3 Die Patientencompliance .....   | 86         |
| 5.4 Von-Willebrand-Faktor haltige Präparate/ Von-Willebrand-Faktor freie Präparate .....                  | 88         |
| 5.5 Plasmatische Faktor VIII Präparate/ rekombinante Faktor VIII Präparate .....                          | 89         |
| 5.6 Der Hemmkörper .....  | 91         |
| 5.7 Die für die Hämophilie A verantwortlichen Mutationen .....  | 93         |
| 5.8 Blutungen während der Immuntoleranztherapie.....  | 95         |
| 5.9 Das intravasale Kathetersystem .....  | 97         |
| 5.10 Anzahl Krankenhausaufenthalte .....  | 99         |
| 5.11 Der Einsatz von Bypassing-Produkten während der Immuntoleranztherapie .                              | 100        |
| 5.12 Der Therapieerfolg und die Therapiedauer im Bonner Hämophilie-Zentrum vor und ab 1990 .....          | 102        |
| 5.13 Hepatitis B, Hepatitis C, HIV und Hepatitis-B-Impfung während der Immuntoleranztherapie .....        | 104        |
| 5.14 Das Alter zu Beginn der Immuntoleranztherapie .....  | 106        |
| 5.15 Multivariate Analyse der Einflussparameter .....   | 107        |
| <b>6. Zusammenfassung.....</b>  | <b>109</b> |

|                                      |            |
|--------------------------------------|------------|
| <b>7. Literaturverzeichnis .....</b> | <b>111</b> |
| <b>8. Danksagungen .....</b>         | <b>124</b> |



## 1. Abkürzungsverzeichnis und Glossar

|                |  |
|----------------|--|
| ANOVA          | Akronym für engl. "analysis of variance", eine statistische Varianzanalyse                       |
| Anti-HBc       | Antikörper, gerichtet gegen das Core-Protein des Hepatitis B Virus                               |
| Anti-HBs       | Antikörper, gerichtet gegen das surface-Protein des Hepatitis B Virus                            |
| APC            | Antigen presenting cell  |
| BU/ BE         | Bethesda units / Bethesda Einheiten  |
| DDAVP          | 1-Desamino-8-D-Arginin-Vasopressin, ein ADH- Analogon  |
| Fab            | Fragment antigen binding   |
| Fas-Ligand     | Ligand für die Bindung am Apoptose induzierenden Fas-Rezeptor                                    |
| FEIBA          | Factor Eight Inhibitor Bypassing Activity, ein Prothrombinkomplex                                |
| HBV-PCR        | Hepatitis B Virus Polymerase Kettenreaktion, ein biochemisches Nachweisverfahren für die HBV-DNA |
| HK             | Hemmkörper, ein Antikörper gerichtet gegen den Faktor VIII                                       |
| ITT            | Immuntoleranztherapie  |
| IHIS           | Interaktives Hämophilie Informationssystem, EDV-System des Bonner Hämophilie-Zentrums            |
| MBMP           | Modifiziertes Bonn Malmö Protokoll   |
| MHC II         | Major histocompatibility complex II, ein Antigen-präsentierendes Protein                         |
| OR             | Odds ratio = Quotenverhältnis, zeigt die Stärke eines Einflussparameters                         |
| PTP            | Previously treated patient   |
| PUP            | Previously untreated patient   |
| PVK            | Peripherer Venenkatheter   |
| R <sup>2</sup> | Abkürzung für die statistische Größe des Bestimmtheitsmaßes                                      |
| Rituximab      | Ein monoklonaler Antikörper, gerichtet gegen das CD-20 Molekül auf B-Lymphozyten                 |
| TGF-β1         | Transforming growth factor beta 1, ein das Zellwachstum regulierendes Zytokin                    |
| Treg           | Regulatorische T-Zelle   |
| vWF            | von Willebrand Faktor  |
| ZVK            | Zentraler Venenkatheter  |

## 2. Einleitung

### 2.1 Allgemeines

Eine der häufigsten hereditären Erkrankungen, die mit einer hämorrhagischen Diathese einhergeht, ist die rezessiv X-chromosomal vererbte Hämophilie A mit einer Häufigkeit von ca. 1: 5000 bei männlichen Neugeborenen (Tuddenham et al., 1994). Die molekularbiologische Grundlage dieser Erkrankung basiert auf dem Mangel eines Gerinnungsfaktors, dem Faktor VIII, der in dem Multienzymsystem der Gerinnungskaskade benötigt wird, um letztendlich Thrombin bzw. Fibrin zu bilden (siehe Abb. 1). Diese Endstrecke der sekundären Hämostase, also die Thrombin- bzw. Fibrinogenbildung, kann bei diesen Erkrankungen nicht, oder nur unzureichend aktiviert werden. Die logische therapeutische Konsequenz bei dieser Gerinnungsstörung besteht daher in der Substitution, d.h. dem Ersatz des fehlenden Gerinnungsfaktor VIII. Dies stellt die Basis der prophylaktischen, d.h. der blutungsvorbeugenden Therapie der Hämophilie A dar. Ein gewisser Anteil, ca. 20-30 % der Patienten mit einer schweren Hämophilie A, entwickelt jedoch unter dieser Substitutionstherapie eine immunologische Antwort in Form eines Antikörpers (Hemmkörper (HK)), der sich gegen den extern zugeführten Faktor VIII richtet (Ehrenforth et al., 1992). Dieser Hemmkörper stellt die schwerste Komplikation der Substitutionstherapie bei Hämophilie A Patienten dar und macht eine prophylaktische Therapie mit dem Faktor VIII unwirksam. Somit sind diese Hemmkörper-Hämophilie-Patienten einem stark erhöhten und unter Umständen lebensbedrohlichen Blutungsrisiko ausgesetzt. Um Patienten in dieser Situation zu helfen, wurde 1974/75 eine Immuntoleranztherapie entwickelt, die in der Lage ist zu einem hohen Prozentsatz den Hemmkörper dauerhaft zu eliminieren und somit wieder eine normale prophylaktische Hämophilie-Therapie zu ermöglichen. Nachfolgend sind weitere Therapieverfahren entwickelt worden, worunter die Immuntoleranztherapie (ITT) nach dem Bonn Protokoll jedoch den größten Stellenwert mit einer hohen Erfolgsquote einnimmt (Makris, 2004). Ziel ist es hier, eine Immuntoleranz für den extern zugeführten Faktor VIII zu erlangen, das Immunsystem also zu desensibilisieren, um letztendlich den Patienten wieder eine normale Faktor VIII Prophylaxe anbieten zu können. Diese Immuntoleranz kann durch eine hochdosierte und kontinuierliche Exposition des FVIII Antigens gegenüber dem Immunsystems im

Rahmen des Bonn Protokolls erreicht werden. Da diese Therapie eine große körperliche und psychische Belastung für die Betroffenen darstellt und mit sehr hohen Kosten verbunden ist, liegt es im Interesse der Patienten, Therapeuten und Krankenkassen die relevanten Einflussfaktoren für den Erfolg und die Therapiedauer des Bonn Protokolls zu erforschen.

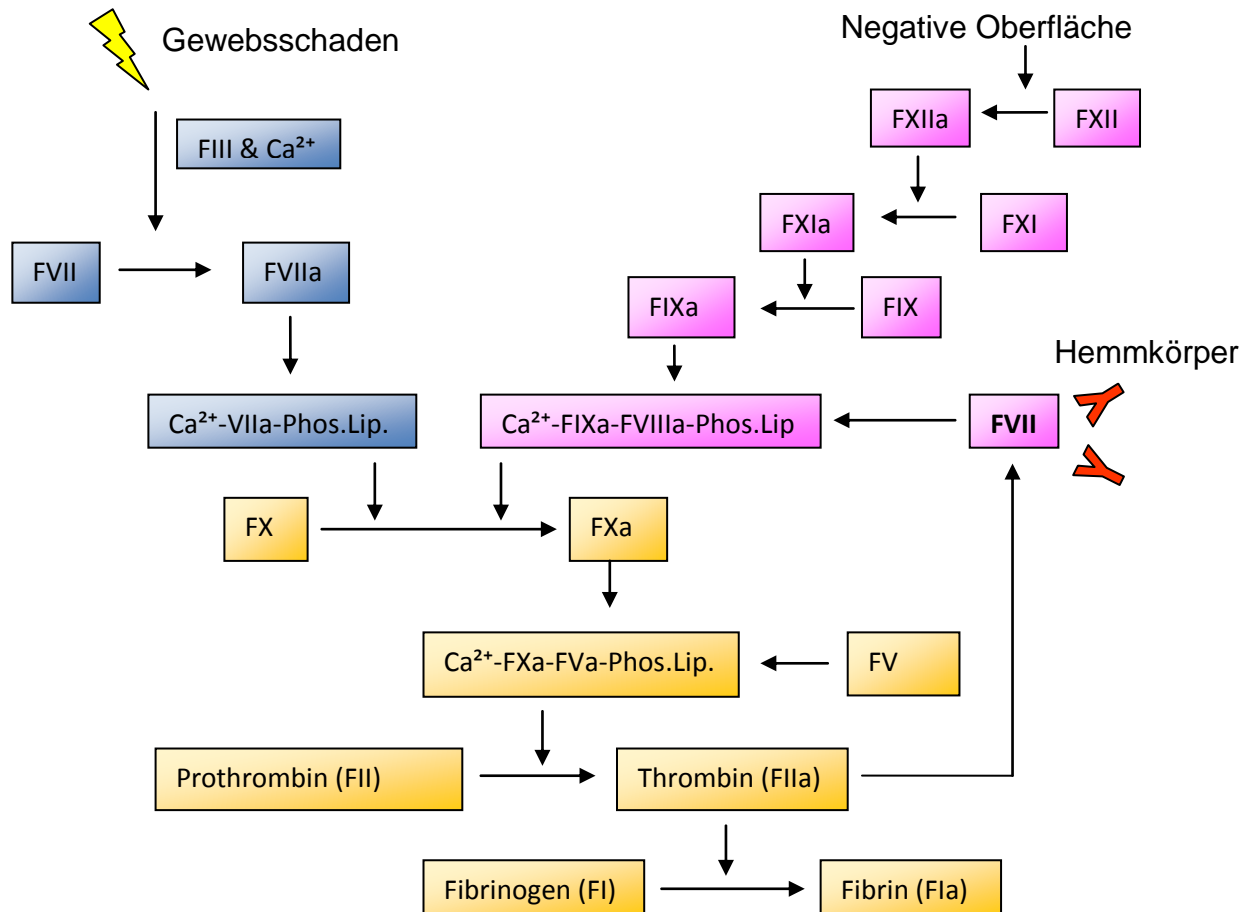


Abb. 1: Schematische Darstellung der Gerinnungskaskade. Das extrinsische System ist blau, das intrinsische System ist rosa und die gemeinsame Endstrecke der Gerinnung ist hellbraun unterlegt. „Phos.Lip.“ ist die Abkürzung für Phospholipid. Die Angabe eines „a“ hinter einem Gerinnungsfaktor gibt an, dass dieser Gerinnungsfaktor aktiviert ist.

## 2.2 Die Geschichte der Hämophilie

Die Hämophilie, Bluterkrankheit oder auch Königskrankheit genannt, ist eine Erkrankung die schon seit hunderten von Jahren das Interesse der Menschen auf sich zieht. Im 19. Jahrhundert rückte die Bluterkrankheit durch Königin Victoria von England, die Konduktorin der Hämophilie A war, in den Fokus der Öffentlichkeit. Durch standesinterne Vermählungen trat diese erbliche Gerinnungsstörung nun vermehrt in den europäischen Königshäusern auf (Lannoy und Hermans, 2010). Der erste schriftliche Hinweis für das Vorliegen einer Hämophilie-Erkrankung findet sich im jüdischen Talmud aus dem zweiten Jahrhundert vor Christus. Hierin ist aufgeführt, dass von weiteren Beschneidungen in Familien, in denen bereits zwei Brüder unter der Beschneidung verblutet sind, abzusehen ist. Der erste Bericht, der über die Hämophilie publiziert wurde, war im Jahre 1803 von dem Amerikaner J.C. Otto, der die Hämophilie als eine vererbbaare, nur das männliche Geschlecht betreffende Gerinnungsstörung beschrieb (Nilsson, 1994). Im Jahr 1964 ereignete sich ein Durchbruch in der Hämophilie Behandlung, als es Judith Pool gelang Gerinnungsfaktoren als Kryopräzipitate zu isolieren, was die Weichen für die heutige Substitutionsbehandlung stellte (Pool et al., 1964; Lee, 2009).

## 2.3 Die Hämophilie-Erkrankung: Genetik und Klinik

Die Hämophilie A ist eine X-chromosomal rezessiv vererbte Erkrankung. Frauen, die nur ein X-Chromosom mit dem defekten Allel für das Faktor-VIII Protein tragen, werden als Konduktorinnen bezeichnet. Da sie ein zweites X-Chromosom besitzen, das die korrekte Erbinformation für den Faktor VIII trägt, sind diese Konduktorinnen meist klinisch inapparent oder zeigen nur eine leicht gesteigerte hämorrhagische Diathese, die aber bei operativen Eingriffen an Relevanz gewinnen kann (Plug et al., 2006). Ein Mann mit einem X-Chromosom, das einen Defekt im Faktor- VIII Genlokus trägt, wird in der Ermangelung eines zweiten X-Chromosoms, je nach Art der Mutation, eine unterschiedlich schwer ausgeprägte Form der Hämophilie A entwickeln. Alle Töchter dieses erkrankten Mannes werden Konduktorinnen, jedoch keiner seiner Söhne wird an der Hämophilie erkranken, da der erkrankte Vater nur sein Y-Chromosom an seinen Sohn vererbt. Konduktorinnen vererben mit jeweils 50 % Wahrscheinlichkeit das defekte X-Chromosom an ihre Töchter oder Söhne.

Da die Gentherapie noch nicht in der Lage ist die Hämophilie A beim Menschen zu heilen (Murphy und High, 2008), bedeutet es für die Betroffenen, dass sie unter einer chronischen Erkrankung leiden, die sie ihr Leben lang begleitet. Die Schweregrad-einteilung orientiert sich an dem Faktor VIII Plasmaspiegel im Vergleich zu einem Normalplasma. So unterscheidet man einen leichten ( $>5\%$ ), mittleren ( $1-5\%$ ) und schweren ( $<1\%$ ) Typ der Hämophilie A (White et al., 2001), wobei sich die schwere Ausprägung klinisch am frühesten und stärksten manifestiert und das intensivste therapeutische Regime verlangt. Bei der schweren Form kann es, bei  $1-4\%$  der hämophilen Kinder, im Rahmen der Geburt zu intrazerebralen Blutungen kommen (Ljung et al., 1994; Meili, 2004). Im Laufe des Lebens können spontane Blutungen in die Haut, die Muskulatur, die Gelenke oder inneren Organe auftreten, sodass von der schweren Form der Hämophilie A stets die Gefahr lebensgefährlicher Blutungen ausgeht. Die Sekundärfolgen rezidivierender Einblutungen können für die Betroffenen im Laufe der Zeit zu schweren körperlichen Einschränkungen führen. Das Hauptproblem stellen hier die Einblutungen in den Bewegungsapparat und besonders der Gelenke dar, da es hier zu einer chronisch proliferativen Entzündungsreaktion der Synovia mit Knorpeldestruktion kommen kann (hämophile Arthropathie) (Lafeber et al., 2008). Die Gelenke versteifen und auf Grund der schmerzbedingten Schonhaltung atrophiert die Muskulatur, sodass daraus letztendlich eine massive Einschränkung der Beweglichkeit resultiert. Operative Traumata wie z.B. eine Zahnextraktion oder Tonsillektomie stellen hier ein größeres Risiko für stärkere Blutungen und Nachblutungen dar, was durch ein aufwendigeres perioperatives Management verhindert werden soll (Jover-Cerveró et al., 2008). Da die Hämophilie A eine chronische Erkrankung ist, die häufigere Arztkonsultationen und medizinische Interventionen verlangt und mit gewissen Lebenseinschränkungen verbunden sein kann, stellt sie für die betroffenen Patienten und Angehörigen eine psychische Belastung dar, die bei der rein somatischen Behandlung der Erkrankung nicht übersehen werden darf. Jedoch haben Studien gezeigt, dass die Lebensqualität von Hämophilie Patienten, die u.a. von der Krankheitsintensität und der sozialen Unterstützung bestimmt wird, besser ist als die von anderen chronischen Erkrankungen des Kindesalters wie Asthma bronchiale, Adipositas oder der atopischen Dermatitis (Bullinger et al., 2003).

Seit der Entwicklung der plasmatischen (pdFVIII) und rekombinanten (rFVIII) Gerinnungsfaktoren, steht eine wirksame Therapie zur Verfügung, die den ursprünglichen Schrecken der Hämophilie-A-Erkrankung in vielen Bereichen genommen und für die immense Verbesserung der Lebensqualität gesorgt hat. Somit ist es heute den Hämophilie-Patienten möglich, unter adäquater Therapie, ein weitgehend normales Leben zu führen, das sich bezüglich der Lebensqualität und Lebenserwartung der der Allgemeinbevölkerung annähert (Oldenburg et al., 2009; Dolan, 2010).

#### 2.4 Die Therapie der Hämophilie A

Die Therapie orientiert sich an dem Schweregrad der Hämophilie, den klinischen Symptomen und der jeweiligen Lebenssituation des Patienten. Somit muss ein flexibles Therapieschema den jeweiligen Gegebenheiten angepasst werden, was den hohen therapeutischen Aufwand in der Behandlung dieser Gerinnungsstörung verständlich macht. Ein ständiger Informationsaustausch zwischen Arzt und Patient ist hierfür die Voraussetzung. In der Behandlung ist eine prophylaktische Therapie, die z.B. bei der schweren Form der Typ A und B Hämophilie indiziert ist, von einer rein symptomatischen Therapie von Blutungsereignissen („on-demand“ Therapie) zu unterscheiden. Die Prophylaxe sieht eine regelmäßige Substitution des Faktor VIII Proteins vor, mit dem Ziel die Gerinnungsfähigkeit zu verbessern und so Blutungen insbesondere in die Gelenke und Muskulatur und die daraus folgenden orthopädischen Spätschäden zu vermeiden (Brackmann et al., 1992). Hierzu stehen unterschiedliche Präparate zur Verfügung, die entweder aus gereinigtem und virusinaktiviertem humanen Plasma hergestellt, oder gentechnisch in Bakterienkulturen produziert werden. Bei Patienten mit einer leichten Form der Hämophilie A kann sich die Therapie auf die Behandlung von akuten Blutungsereignissen beschränken. Einen guten Therapieeffekt lässt sich bei milden Formen der Hämophilie A mit Desmopressin (DDAVP) erreichen (Castaman et al., 2009). Eine andere Möglichkeit die Endstrecke der Gerinnungskaskade zu aktivieren und so Thrombin bzw. Fibrin zu bilden, was für die Hämostase bei einer akuten Blutung benötigt wird, ist die Gabe sogenannter Bypassing-Produkte. Klassische Vertreter sind hier das NovoSeven und das FEIBA (Oldenburg et al., 1999). NovoSeven enthält den aktivierten Faktor VII (FVIIa), das

FEIBA ist ein Gemisch aus den Faktoren II, IX, X in vorwiegend nicht aktivierter Form und den aktivierten Faktor VIIa (Baxter Fachinformation, 2010). Diese Bypassing-Produkte aktivieren die Blutgerinnung über die extrinsische Gerinnungskaskade. Sie kommen besonders bei Patienten mit Hemmkörpern zur Anwendung, da Bypassing-Produkte auch ohne Anwesenheit des Faktor VIII zu einer Gerinnbarkeit des Blutes in vielen Fällen führen. Allerdings ist ihre Effektivität nicht immer mit der Behandlung mit Faktor VIII-haltigen Gerinnungspräparaten vergleichbar. Wichtig ist auch, dass sich nach einer Gelenk- oder Muskelblutung nicht-medikamentöse Therapieformen wie z.B. die Physiotherapie, Verschreibung von Gehhilfen und Patientenedukation anschließen, um bleibende funktionelle Einschränkungen des Bewegungsapparates zu verhindern. Diese Empfehlungen gelten für Hemmkörperpatienten genauso wie für Hämophile-Patienten ohne Hemmkörper (Heijnen, 2008).

## 2.5 Komplikationen der Hämophilie Behandlung

Die Substitutionsbehandlung von Hämophilie Patienten mit humanen plasmatischen Gerinnungsfaktoren ist in den frühen 1980er Jahren in den öffentlichen Focus gerückt, nachdem die ersten Fälle von Virusübertragungen, insbesondere des humanen Immundefizienz Virus (HIV), Hepatitis B und Hepatitis C Virus, durch plasmatische Produkte auf Patienten bekannt wurden (Mannucci, 2002). Diese schwerwiegende Komplikation hat heutzutage, auf Grund der Virusinaktivierung, Spenderselektion und strengen hochsensitiven Kontrollmechanismen nur noch einen theoretischen Wert (Tabor, 1999). Eine weitere Komplikation sind allergische Reaktionen auf das exogen zugeführte Faktor VIII Protein oder auf die anderen Bestandteile der Substitutionsprodukte (Helmer et al., 1980; Kadar et al., 2007). Hier gibt es eine große Bandbreite an klinischer Ausprägung, die Histamin-vermittelt von lokalem Juckreiz und Rötung über Luftnot und Schwindel bis zum anaphylaktischen Schock reichen kann.

Die schwerwiegendste Komplikation der prophylaktischen Substitutionsbehandlung ist die Entwicklung eines IgG-Antikörpers gegen das substituierte Faktor VIII Protein. Dieser Antikörper wird auch als Hemmkörper bezeichnet, da er die hämostatische Wirkung des zugeführten Faktor VIII hemmt und auf diese Weise den Effekt der prophylaktischen Substitutionstherapie aufhebt bzw. stark reduziert.

## 2.6 Pathogenese der Hemmkörperentwicklung und Risikofaktoren für eine Hemmkörperbildung

Der ätiologische Zusammenhang zwischen der Zuführung von plasmatischem oder rekombinantem Faktor VIII und der Entstehung eines gegen dieses Protein gerichteten Hemmkörpers ist klar belegt. Jedoch ist es heutzutage immer noch unklar, wieso gerade 20-30 % der Patienten unter der Faktor VIII Behandlung mit einer Hemmkörperbildung reagieren, und die restlichen 70-80 % nicht. Jedoch konnten in Studien Risiko- und Einflussfaktoren gefunden werden, die die Entstehung eines Hemmkörpers begünstigen bzw. eine protektive Wirkung zeigen. Parameter, die die Hemmkörperbildung begünstigen, lassen sich in unbeeinflussbare konstante Faktoren und variable veränderbare Faktoren unterscheiden. Die konstanten Faktoren haben nur einen prognostischen, die variablen Faktoren besitzen einen präventiven Wert. Zu den konstanten, nicht beeinflussbaren Faktoren zählen u.a. genetische Faktoren. Es liegt nahe, von einer genetischen Prädisposition für die Hemmkörperentwicklung auszugehen, da FVIII-Hemmkörper in einigen Hämophilie-Familien und der afro-amerikanischen Bevölkerung gehäuft auftreten. Auch die hohe Konkordanzrate für die Hemmkörperentwicklung unter Geschwistern (Kaukasier ca. 27 %; Afroamerikaner ca. 55 %) und Zwillingen (ca. 88 %) unterstützt diese Annahme (Astermark et al., 2001). So konnte auch ein gewisser Zusammenhang zwischen der Mutation, die für die Hämophilie verantwortlich ist und dem Auftreten eines Hemmkörpers festgestellt werden (Astermark et al., 2005). Es konnte gezeigt werden, dass bei Mutationen wie der Stopp-Mutation, großen intrachromosomalen Rekombinationen, Nonsense-Mutationen und großen Deletionen, bei denen das Faktor-VIII Protein stark verändert, oder gar nicht mehr exprimiert wird, es zu einem verstärkten Auftreten von Hemmkörpern kommt (Brackmann et al., 1996; Kempton und White, 2009; Oldenburg et al., 2004; Schwaab et al., 1995). Ein Erklärungsversuch hierfür bezieht sich auf die negative Selektion im frühkindlichen Thymus. Bei dieser negativen Selektion werden normalerweise T-Lymphozyten durch Apoptose entfernt, die körpereignes Antigen erkennen (Siggs et al., 2006). Da bei schweren Mutationen, wie Stopp-Mutationen oder Inversions-Mutation, das Faktor VIII Protein nicht in korrekter Form oder ausreichender Menge gebildet werden kann, unterliegt es hier auch nicht dem Prozess der negativen Selektion, sodass auch autoreaktive T-Zellen nicht aussortiert werden



(Reipert et al., 2007; Schwaab et al., 1995). So könnte das zugeführte Faktor VIII Protein von diesen T-Zellen als „körperfremd“ erkannt und über den MHC II Komplex dem Immunsystem präsentiert werden, was letztendlich zu einer Aktivierung antikörperbildender B-Lymphozyten führt (White et al., 2005). Desweiteren konnte man zeigen, dass Polymorphismen in anderen Genen der Immunantwort, z.B. in der Promotorregion des Interleukin-10 (IL-10), ein die Immunantwort regulierendes Zytokin, mit dem vermehrten Auftreten von Hemmkörpern assoziiert ist (Astermark et al., 2006 a). Auch ein weiteres Zytokin, das TNF $\alpha$ , kann mit der Entstehung von Hemmkörpern bei Hämophilie A Patienten in Verbindung gebracht werden: So zeigte sich, dass das Vorhandensein des seltenen TNFA – 308A Allels mit einem signifikant erhöhtem Risiko für die Hemmkörperentwicklung verbunden ist (Astermark et al., 2006 b). Auf zellulärer Ebene scheinen regulatorische T-Zellen einen wichtigen Einfluss auf die Immuntoleranz zu haben. Sie sind in der Lage, die Differenzierung nativer T-Zellen zu Effektor-T-Zellen zu unterdrücken. Auch die Funktion von schon ausdifferenzierten CD4+, CD8+, Makrophagen und den Antigen-präsentierenden dendritischen Zellen (APC) wird durch regulatorische T-Zellen supprimiert (Sakaguchi et al., 2008). Eine Insuffizienz regulatorischer T-Zellen, kann zu einer verstärkten Neigung für Autoimmunreaktion führen (Tang und Bluestone, 2006). So könnte auch ein Defekt oder Mangel an regulatorischen T-Zellen die Hemmkörperbildung bei Hämophilie A Patienten erklären. Da eine kontrollierte Immunreaktion aus der Interaktion zwischen Effektorzellen und regulatorischen T-Zellen besteht, könnte eine Resistenz der peripheren Immunzellen für die inhibitorischen Einflüsse der regulatorischen T-Zellen, zur Entwicklung eines Hemmkörpers beitragen.

Als beeinflussbarer Faktor hat sich der Zeitpunkt der ersten Faktor VIII Gabe herausgestellt. So ist die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines Hemmkörpers in den ersten Lebensmonaten unter Faktor VIII Gabe am höchsten (Lorenzo et al., 2001). Hohe Dosierungen an Faktor VIII und chirurgische Eingriffe zu Beginn der prophylaktischen Therapie sind als weitere beeinflussbare Risikofaktoren zu nennen. Demgegenüber zeigt sich aber auch, dass eine konstante regelmäßige Faktor VIII Prophylaxe einen präventiven Effekt für das Entstehen eines Hemmkörpers hat (Auerswald et al., 2011; Gouw et al., 2007 b).

Zwischen Patienten, die plasmatische oder rekombinante Gerinnungsfaktoren erhalten haben, konnte in der großen retrospektiven CANAL cohort study, kein deutlicher Unterschied bezüglich der Inzidenz von Hemmkörpern festgestellt werden (Gouw et al., 2007 a). Andere Studien zeigten eine höhere Inzidenz von Hemmkörpern bei Patienten, die mit rekombinantem Faktor VIII behandelt wurden (Goudemand et al., 2006). Auch der Vergleich von vWF-haltigen und vWF-freien Gerinnungspräparaten zeigte in der CANAL cohort study keinen Einfluss auf die Hemmkörperbildung. Der Wechsel von Gerinnungspräparaten konnte ebenfalls nicht mit der Hemmkörperbildung in Zusammenhang gebracht werden (Gouw et al., 2007 a).

## 2.7 Der Hemmkörper und seine klinischen Auswirkungen

Die Hemmkörperbildung vollzieht sich meistens innerhalb des Zeitraums der ersten fünfzig Substitutionen mit dem Gerinnungsfaktor (Brackmann et al., 1996; Ehrenforth et al., 1992). Patienten, die noch keinen FVIII erhalten haben, werden als „previously untreated patients“ (PUPs) bezeichnet und haben während der ersten hundert FVIII Substitutionen ein erhöhtes Risiko für die Hemmkörperbildung. Die Mehrzahl der Patienten, die einen Hemmkörper entwickeln, weisen eine schwere Form der Hämophilie auf. Erste klinische Zeichen, die auf das Auftreten eines Hemmkörpers hinweisen können, sind das Ausbleiben des Therapieeffektes der Faktor VIII Substitution. So sind stattgehabte Blutungen unter der Therapie nicht rückläufig, oder sogar progredient. Desweilen kann es auch zu Spontanblutungen kommen, die unter der Standardtherapie nicht sistieren. Diese klinischen Zeichen sollten die Suche nach einem Hemmkörper veranlassen (Hay et al., 2000). Laborchemisch kann die verminderte Halbwertszeit und reduzierte Plasmakonzentration des Faktor VIII Proteins nachgewiesen werden. Der zeitliche Verlauf der Faktor VIII Konzentration nach der Substitution, die sog. Recovery, ist deutlich erniedrigt (Hay et al., 2000). Letztendlich kann der Hemmkörper direkt nachgewiesen und sein Titer durch den Bethesda- oder Nijmegen-Assay bestimmt werden (Verbruggen et al., 2009). An Hand des Hemmkörpertiters werden zwei Gruppen unterschieden: Als Low-Responder bezeichnet man Patienten, deren Hemmkörpertiter niemals höher als 5 Bethesda Einheiten (BE) ist. Übersteigt der Titer diese Grenze von 5 BE, bezeichnet man diese Patienten als High-Responder (White et al., 2001).

Um zu verstehen, wie der Hemmkörper das Gerinnungssystem beeinflusst, muss man das Faktor VIII Protein, seine physiologische Funktion und die Interaktion des Hemmkörpers mit dem Faktor VIII genauer betrachten: Die Aminosäuresequenz wurde 1984 von der cDNA des Faktor VIII Gens abgeleitet. Demnach besteht das Faktor VIII Glykoprotein aus 2332 Aminosäuren, die drei unterschiedliche Domänen bilden (Vehar et al., 1984). Hier unterscheidet man eine A1-A2-B-A3-C1-C2 Region. Im Plasma geht das Faktor VIII Protein eine heterodimere, nicht-kovalente Bindung mit dem von Willebrand Faktor (vWF) ein, sodass sich seine Halbwertszeit auf ca. 10 Stunden erhöht (Thompson, 2003). Der von Willebrand Faktor verhindert ebenfalls, dass das Faktor VIII Protein nicht ohne eine Aktivierung an die Phospholipide der Thrombozytenoberfläche binden kann, was eine ungesteuerte Gerinnung zur Folge hätte (Saenko und Scandella, 1995). Durch den aktivierten Faktor II (Thrombin) dissoziiert das Faktor VIII Protein aus seinem heterodimeren Komplex und entfaltet seine gerinnungsfördernde Wirkung, indem es zusammen mit dem Faktor IXa den Faktor X aktiviert, welcher seinerseits in der Gerinnungskaskade nachfolgende Gerinnungsfaktoren aktiviert (Thompson, 2003) (vgl. Abb. 1).

Erkennt das Immunsystem das extern zugeführte Faktor VIII Protein als körperfremd, werden B-Lymphozyten stimuliert Immunglobuline zu bilden, die sich dann mit ihrer Fab-Domäne gegen die Epitope des Faktor-VIII Proteins richten. Je nachdem, an welche Domäne am Faktor VIII sich der Hemmkörper anlagert, werden unterschiedliche Funktionen des Proteins inaktiviert: Richtet sich z.B. der Antikörper gegen die C2-Domäne des Faktor VIII Proteins, so ist die Bindung an den vWF und an die Phospholipide nicht mehr möglich (Jacquemin et al., 1998). Findet die Hemmkörper-Anlagerung an die A3 Domäne statt, so kann der Faktor VIII keinen Komplex mehr mit dem Gerinnungsfaktor IX eingehen (Scandella, 2000). Beides hat zur Folge, dass die Gerinnungskaskade nicht entsprechend aktiviert werden kann. Aber nicht nur der spezifische Funktionsausfall des Faktor VIII Proteins, sondern auch der beschleunigte Abbau des Faktor VIII Proteins durch das eigene Immunsystem erklärt die verstärkte Blutungsneigung unter Anwesenheit eines Hemmkörpers. Dies schlägt sich laborchemisch in einer verkürzten Halbwertszeit nieder. So kommt es zu einem funktionellem Wirkverlust und absoluten Mangel des Gerinnungsfaktor VIII. Die Hemmkörperentwicklung stellt für die Eltern der betroffenen Kinder bzw. für die Hemm-

körperpatienten selbst eine erhebliche körperliche und psychische Belastung dar. Eine normale prophylaktische Substitutionsbehandlung wird durch den Hemmkörper ineffektiv (Oldenburg et al., 1999). Wird keine Therapie durchgeführt, besteht die Gefahr für spontane Gelenkeinblutungen mit sekundärer Versteifung und Gelenkdestruktion, was bis zur Invalidität führen kann (Morfini et al., 2007). Das Risiko für schwere Organblutungen und lebensbedrohliche Intrazerebralblutungen ist bei Hemmkörperpatienten erhöht. Bei größeren Verletzungen oder operativen Eingriffen kann mit Bypassing-Produkten oder dem porcinen Faktor VIII (vom Schwein isolierter Faktor VIII [in Deutschland nicht zugelassen]) behandelt werden (Lauroua et al., 2009; Quintana-Molina et al., 2004), jedoch kann mit diesen Maßnahmen die Gerinnung nur unterstützt, aber nicht normalisiert werden, wie dies bei Patienten ohne Hemmkörper mit dem Faktor VIII möglich ist. Besonders die orthopädischen Probleme, die zu körperlichen Einschränkungen führen, stellen für die Hemmkörper-Patienten eine psychosoziale Belastung dar, da sie dadurch in ihrer Produktivität und Aktivität eingeschränkt sind (Brown et al., 2009). So scheinen starke Beeinträchtigungen des Bewegungsapparates die Hauptquelle für eine verminderte Lebensqualität der Hemmkörperpatienten zu sein (Scalone et al., 2006). Schmerzen durch Einblutungen in den Bewegungsapparat werden von den Hemmkörperpatienten häufiger angegeben (Gringeri et al., 2003). Heutzutage stehen glücklicherweise mehrere Therapieformen für diese Hämophilie-Patienten mit Hemmkörpern zur Verfügung.

## 2.8 Behandlungsmethoden des Hemmkörpers

Für die Therapie des Hemmkörpers wurden unterschiedliche Therapieformen entwickelt, unter denen das Bonn Protokoll den größten Stellenwert eingenommen hat. Therapeutisch gibt es unterschiedliche Strategien mit der Hemmkörperentwicklung umzugehen: Patienten mit einem sehr niedrigen Hemmkörpertiter und geringer klinischer Ausprägung, können vorerst nur beobachtet werden, da einige dieser Patienten auch ohne eine Hemmkörpertherapie spontan die Immuntoleranz erlangen (Dimichele, 2006). Eine andere Therapieform akzeptiert die Persistenz des Hemmkörpers und beschränkt sich auf die Blutungsprophylaxe mit Bypassing Produkten wie FEIBA oder NovoSeven. Blutungen werden mit höheren Dosierungen von Bypassing Produkten abgefangen (Kempton und White, 2009). Bei niedrigen Hemmkörpertitern

kann mittels einer hochdosierten Faktor VIII Gabe der Hemmkörper „überspielt“ werden und so eine ausreichende Gerinnung erzeugt werden. Die andere Therapieform hat die Eradikation des Hemmkörpers zum Ziel, um so eine Immuntoleranz für den substituierten Faktor VIII wieder zu erlangen. Ist die Eradikation geglückt, kann die Hämophilie mit einer normalen Basisprophylaxe mit Faktor VIII behandelt werden.

Unter den Therapieschemata, die eine Hemmkörperelimination zum Ziel haben, unterscheidet man das Bonn Protokoll, bei dem zweimal täglich hochdosiert der Faktor VIII (2x 150 E/kgKG pro Tag) verabreicht wird (Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten, 2008) von dem van Creveld Protokoll, dass mit niedrigeren Dosierungen (25 E/kgKG) dreimal pro Woche auskommt (Dimichele et al., 2007; Kreuz et al., 2003).

Das van Creveld Protokoll hat seine therapeutische Berechtigung bei Hemmkörperpatienten mit prognostisch günstigen Ausgangsparameter (historischer HK-Peak <200 BU, HK-Titer vor dem ITT Beginn <10 BU), wohingegen bei ungünstigen Ausgangsparametern (HK-Peak >200 BU, HK-Titer vor dem ITT Beginn >10 BU) das Bonn Protokoll weitaus bessere Erfolgsquoten aufweist (Kroner, 1999). Schlagen diese beiden Therapieverfahren fehl, so kann versucht werden, mit dem Modifizierten Bonn Malmö Protokoll (MBMP), bestehend aus einer Kombination aus extrakorporaler Immunadsorption, Immunsuppression mit Cyclophosphamid und Prednisolon sowie der intravenösen Substitution von Immunglobulinen und hochdosiertem Faktor VIII (Zeitler et al., 2005), die Eradikation des Hemmkörpers zu erreichen (Dimichele et al., 2007). Auch durch die zusätzliche Gabe von Rituximab (Streif et al., 2009) konnte bei primär nicht erfolgreich verlaufendem Bonn Protokoll die Immuntoleranz erreicht werden. Heutzutage hat sich die Therapie der Hemmkörper-Hämophilie dahingehend entwickelt, dass es zu einer Individualisierung der Therapie gekommen ist. Die Therapie wird dem Verlauf der Erkrankung, den Laborparametern und der individuellen Lebenssituation des Patienten angepasst.

Der molekulare Wirkmechanismus, wie die konstante und hochdosierte Faktor VIII Gabe zu einer Immuntoleranz führt, ist bis heute noch relativ unklar. Jedoch gibt es Hinweise aus Mausmodellen, die darauf hindeuten, dass der hohe Blutplasmaspiegel an Faktor VIII während der regelmäßigen Substitution zu einer Aktivierung

regulatorischer T-Zellen (Treg) führt, die durch ihre Interaktion mit Effektor-T-Zellen zu einer Immuntoleranz führen können (Apostolou und von Boehmer, 2004). In vitro und im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass die hohen Faktor VIII Spiegel im Rahmen einer Immuntoleranztherapie dazu führen, dass die Wiederaktivierung von Faktor VIII-spezifischen Gedächtnis B-Zellen und die Differenzierung von B-Lymphozyten in Antikörper-produzierende Plasmazellen unterdrückt werden (Hausl et al., 2005). Desweiteren konnte auch die Beobachtung gemacht werden, dass es im Laufe der Immuntoleranztherapie zur Ausbildung sogenannter anti-idiotypischer Antikörper kommt. Dies sind Antikörper, die an dem variablen Teil des anti-FVIII-Immunglobulin (Hemmkörper) binden. Somit wird der Hemmkörper durch diese anti-idiotypischen Antikörper neutralisiert, wodurch dieser nicht mehr an das Faktor VIII Protein bindet. Dies führt dazu, dass das Faktor VIII Protein seine gerinnungsfördernde Wirkung in der Gerinnungskaskade wieder entfalten kann (Gilles et al., 1996; Gilles et al., 2004). Welche Mechanismen letztendlich die Immuntoleranz bedingen, ist jedoch bis heute noch weitgehend ungeklärt.

## 2.9 Die Geschichte der Entwicklung des Bonn Protokolls

Das Bonn Protokoll wurde im Jahre 1974 auf Grund empirischer Beobachtungen von Brackmann entwickelt und bis 1976 modifiziert und weiterentwickelt: 1974 wurde eine Publikation von Kurczynski und Penner veröffentlicht, die von einem Therapieerfolg von Blutungsepisoden bei Hemmkörperpatienten berichtet, der durch die Gabe eines aktivierten Prothrombin-Komplexes erreicht wurde (Kurczynski und Penner, 1974). Ein paar Monate später wurde ein dem Hämophiliezentrum bekannter Hämophilie A Patient mit Hemmkörper notfallmäßig in der Bonner Universitätsklinik eingewiesen. Der eineinhalb jährige Junge wies schwere lebensbedrohliche Blutungen in der Schulter, Oberarm und Brustwand auf. Der Hemmkörper-Titer lag bei über 500 Bethesda Einheiten (BU). Das Vorhaben, die therapeutische Methode von Kurczynski und Penner auch bei diesem Hemmkörperpatienten anzuwenden, scheiterte an der Tatsache, dass zu dieser Zeit der aktivierte Prothrombin-Komplex in Deutschland noch in der Entwicklungsphase war. Aus der Not heraus entschied Brackmann eine Kombinationstherapie aus zugelassenem Prothrombinkomplex (PPSB; bestehend aus den Faktoren II, V, VII und X) und einer hohen Dosis an Faktor VIII (ca. 100 Einheiten

je Kilogramm Körpergewicht) zweimal täglich zu verabreichen. So wurden die Blutungen des 1 ½ jährigen Jungen unter Kontrolle gebracht, sodass er nach drei Wochen aus dem Krankenhaus entlassen werden konnte. Als unerwarteten Nebeneffekt stellte man fest, dass der Hemmkörpertiter von den anfänglichen 500 Bethesda Einheiten auf gering über 40 Bethesda Einheiten gesunken war. Als der Junge nach kurzer Zeit wegen einer erneuten Blutung substituiert wurde, zeigte sich bei der Vorstellung im Hämophiliezentrum, dass der Hemmkörpertiter erneut angestiegen war. Brackmann entschied daraufhin die anlässlich der vorausgegangenen schweren Blutung durchgeführte Behandlung mit PPSB und hohen Dosen an Faktor VIII Konzentrat dauerhaft beizubehalten, in der Hoffnung den Hemmkörper vielleicht unterhalb der Nachweisgrenze zu reduzieren, was schließlich nach vielen Monaten dauerhaft gelang. Dies war die Geburtsstunde des „Bonn Protokolls“. Die Anwendung dieses Therapieschemas bei weiteren Hemmkörperpatienten mit hohen Hemmkörpertitern bestätigte das erste Ergebnis (Brackmann et al., 1996).

Das initiale Bonn Protokoll besteht aus der Kombinationstherapie von 100 Einheiten Faktor VIII je kg Körpergewicht und 50 Einheiten FEIBA je kg Körpergewicht, die zweimal täglich, in 12- stündlichen Abständen, intravenös verabreicht werden. Etwas später wurde eine Modifikation des Bonn Protokolls initiiert, die sich auf die alleinige Gabe von Faktor VIII beschränkt. Hier werden die 50 Einheiten FEIBA durch 50 Einheiten Faktor VIII ersetzt, sodass bei diesem zweiten Therapieregime des Bonn Protokolls 150 Einheiten Faktor VIII je kg Körpergewicht zweimal täglich verabreicht werden. Diese zweite Form des Bonn Protokolls ist für Hemmkörperpatienten bestimmt, die eine geringere Neigung zu Blutungsereignissen haben (Brackmann et al., 1996). 1977 wurde die erste Publikation über die erfolgreiche Behandlung eines 20jährigen Hemmkörper-Patienten aus Dänemark veröffentlicht. Bei diesem Patienten gelang es, innerhalb von sieben Monaten eine Eradikation des Hemmkörpers zu erreichen (Brackmann und Gormsen, 1977). Somit stand nun nicht nur eine Therapie der Blutungsereignisse bei Hemmkörperpatienten zur Verfügung, sondern es konnte der Hemmkörper selbst eliminiert werden, sodass der substituierte Faktor VIII wieder seine therapeutische und prophylaktische Wirkung entfalten kann.

## 2.10 Einflussfaktoren auf den Erfolg und Dauer der Immuntoleranztherapie

Das Immunsystem ist ein sehr komplexes System, dass den Menschen vor schädlichen Einflüssen schützen soll. Es wird durch diverse exogene Umwelteinflüsse (Adkinson, 1977) und endogenen Vorgängen beeinflusst. So ist auch davon auszugehen, dass eine Modifikation der Immunantwort im Rahmen der Immuntoleranztherapie von unterschiedlichen exogenen und endogenen Faktoren beeinflusst wird. So stellte man fest, dass es durch eine Unterbrechung in der regelmäßigen Verabreichung des Faktor VIII, zu einer deutlichen Verlängerung der Therapiedauer kommt (Oldenburg et al., 1999). Infektionen von Gefäßzugängen wie ZVK, Broviak-Kathetern und Port-Systemen scheinen die Therapiedauer zu verlängern und sogar den Therapieerfolg zu gefährden. Hohe Hemmkörper-Titer zu Beginn der Therapie und evtl. die Intron-22 Inversion stellen negative prädikative Faktoren dar (Oldenburg et al., 1999). Ein Parameter, der einen starken Einfluss auf die Therapiedauer und den Therapieerfolg gezeigt hat, ist die Höhe der Faktor VIII Dosierung. So zeigten hier jene Dosierungsprotokolle mit einer hohen Dosierung an Faktor VIII ( $> 100 \text{ E/kgKG}$ ) bei hochtitrigen Hemmkörperpatienten die besten Resultate (Mariani et al., 1994). Es gibt gewisse Hinweise, dass der Einsatz von vWF haltigen Präparaten mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für einen Therapieerfolg assoziiert ist (Kreuz, 2008). Auch das Lebensalter zu Beginn der Therapie und die Zeitspanne zwischen dem Auftreten des HK bis zum Therapiebeginn, konnten in einigen Studien als Einflussparameter erkannt werden (Mariani und Kroner, 2001).

## 2.11 Zielsetzung

Ziel dieser retrospektiven Studie ist es, an Hand des Bonner Patientenkollektives, Einflussfaktoren für den Erfolg bzw. Misserfolg und die Dauer der Immuntoleranztherapie bei Hämophilie A Patienten mit Hemmkörpern zu finden. Der Wunsch, die Immuntoleranztherapie zu effektivieren, wird von unterschiedlichen Interessengruppen formuliert: Für die Hemmkörperpatienten stellt die Immuntoleranztherapie eine hohe Belastung dar: So fordert das Bonn Protokoll pro Tag zwei i.v. Injektionen eines Faktor VIII Produktes und evtl. zusätzliche Injektionen für die Bypassing-Produkte. Desweiteren wird vom Gesetzgeber verlangt, dass diese Injektionen protokolliert werden müssen. Für diese Injektionen müssen die Patienten bzw. Eltern der Kinder



die Heimselfstbehandlung (ärztlich kontrollierte Selbstbehandlung) erlernen. Nachlässigkeiten in der Einhaltung des Therapieregimes können den Erfolg der Immuntoleranztherapie gefährden. Dies verlangt von den Patienten eine hohe Selbstdisziplin und Therapie-Compliance. So wäre die Durchführung dieser belastenden Immuntoleranztherapie für viele Patienten leichter, wenn die Therapiedauer einen kürzeren Zeitraum in Anspruch nehmen würde und das therapeutische Team eine gute Aussicht auf einen Therapieerfolg versprechen könnte.

Auf Grund der hochdosierten Faktor VIII Gabe und der langen Therapiedauer, verursacht das Bonn Protokoll sehr hohe Kosten, bei einem ungünstigen Therapieverlauf bis zu zweistelligen Millionenbeträgen (Euro) (Mariani und Kroner, 2000). Die Therapiekosten lassen sich wie folgt abschätzen:

Kosten (€) = Zweimal tägliche Infusion von 150 E/kg KG multipliziert mit dem Körpergewicht, multipliziert mit der Therapiedauer in Tagen, multipliziert mit dem Preis für eine Einheit Faktor VIII. So würde z.B. ein 15 kg schwerer Patient mit einem 15-monatigen Therapieverlauf folgende Kosten verursachen:

$$\text{Kosten} = 2 [1/\text{d}] \times 150 [\text{E}/\text{kg}] \times 15 [\text{kg}] \times 1,25 [\text{a}] \times 365 [\text{d}] \times 0,5 [€/\text{E}] = 1.026.562,5 \text{ €}$$

In diesen Berechnungen sind die Kosten für ärztliche Behandlungen, Bypassing-Produkte und stationäre Aufenthalte nicht berücksichtigt. Entsprechend der obigen Formel können bei Erwachsenen die Therapiekosten fünf Millionen Euro übersteigen. So stellt die Hämophilie mit Hemmkörperentwicklung die kostenintensivste Therapie aller chronischen Erkrankungen dar, vermag es jedoch, dass die Patienten eine befriedigende Lebensqualität erreichen (Gringeri et al., 2003). Daher besteht auch auf Seiten der Krankenkassen und des gesamten Gesundheitssystems ein besonderes Interesse in der Effektivierung des Bonn Protokolls.

### **3. Methoden, Patienten und Material**

#### **3.1 Das Bonner Hämophilie-Zentrums**

Das von Egli und Brackmann gegründete Bonner Hämophilie-Zentrum ist eines der größten, auf die Diagnostik und Therapie der Hämophilie spezialisierten Zentren weltweit und betreut Patienten im gesamten Bundesgebiet. Um den vielfältigen Schwierigkeiten, die die Hämophilie mit sich bringt, gerecht zu werden, steht ein breites therapeutisches Team, bestehend u.a. aus Ärzten, Krankenschwestern, Sekretärinnen, Laborassistentinnen, IT-Experten und einer Psychologin zur Verfügung. Für die Hämophilie-Patienten ist rund um die Uhr, auch am Wochenende und an Feiertagen, ein Ansprechpartner erreichbar. Da sich die Hämophilie nicht nur in veränderten Laborparametern manifestiert, sondern die hämorrhagische Diathese sich auf viele Organsysteme und Körperstrukturen auswirkt, kooperiert das Bonner Hämophilie-Zentrum eng mit den anderen Fachdisziplinen des Universitätsklinikums, z.B. der Orthopädie, der Pädiatrie, der Chirurgie u.v.m. um hier die beste Betreuung für die Patienten zu erreichen. Das Kernstück der Prophylaxe, Immuntoleranztherapie und Behandlung von stattgehabten Blutungen ist jedoch die von Egli und Brackmann 1971 eingeführte Heimselbstbehandlung (Brackmann et al., 1976). Hierbei verabreichen sich die Patienten selbst, bzw. die Eltern ihren Kindern, nach Absprache mit dem Hämophilie-Zentrum, die situationsadaptierte Menge an Faktor VIII und/oder Bypassing-Produkten (z.B. FEIBA oder NovoSeven). Die Patienten bzw. Angehörigen werden hierzu im Voraus stationär oder ambulant in der Durchführung dieser Heimselbstbehandlung, der Erkennung von Blutungen und der gesetzlich vorgeschriebenen Dokumentation geschult (Brackmann et al., 2002). Ohne diese Heimselbstbehandlung wäre eine so intensive Therapie, wie es das Krankheitsbild der Hämophilie verlangt, nicht durchführbar. Sie verkürzt den Zeitraum zwischen dem Erkennen der Blutung und seiner unmittelbaren Behandlung zu jeder Zeit und an jedem Ort dramatisch und verleiht somit den Patienten einen gewissen Grad an Unabhängigkeit vom behandelnden Arzt, erhöht den Bewegungsfreiraum und die Zeitintervalle der Arztkonsultationen und verbessert letztendlich die Lebensqualität der Patienten. Regelmäßige Kontrolltermine werden jedoch trotz der Heimselbstbehandlung benötigt, um den Verlauf der Erkrankung beurteilen zu können.

### 3.2 Dokumentation und Datengewinnung

Schon in der Anfangszeit des Hämophilie-Zentrums in den 1970ern, wurde auf eine systematische und vollständige Datenerhebung und Befunddokumentation großen Wert gelegt. Alle erhobenen Informationen werden direkt nach dem Patientenkontakt dokumentiert, sodass eine vollständige und lückenlose Rekonstruktion des Krankheits- und Behandlungsverlaufs möglich ist. Jeder Patient besitzt eine Patientenakte, die sich aus Stammbblatt, stationärem Behandlungsplan, Laborblättern, Korrespondenz-Mappe und der Telefonkartei zusammensetzt.

Das Stammbblatt enthält den Namen, das Geburtsdatum, die Adresse mit den Kontaktdaten, den Gerinnungsschweregrad, die Blutgruppe und Informationen über das Vorhandensein eines Hemmkörpers. Einen stationären Behandlungsplan erhält ein Patient, sobald er sich einmal in eine stationäre Therapie begeben hat. Aus diesem Plan soll auf einen Blick der Verlauf einer stationären Behandlung des Patienten ersichtlich werden. Hierzu werden auf diesem stationären Behandlungsplan der Grund und Zeitraum des stationären Aufenthaltes, die therapeutischen Interventionen und die Gabe des Faktor VIII Konzentrates bzw. der Bypassing-Produkte dokumentiert.

Die Laborblätter beinhalten die Ergebnisse aller laborchemischen Untersuchungen. So lassen sich hier Werte wie die Faktor VIII Restaktivität, die 12- bzw. 24- Stunden Recovery, die Höhe des Hemmkörper-Titers, Ergebnisse und Titer von Erregerdiagnostik wie z.B. Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus, HIV und der Gelenkstatus ablesen. Seit 1985 werden alle Labordaten mit der elektronische Datenverarbeitung (EDV) erfasst und gespeichert.

Die Korrespondenz-Mappe enthält alle schriftlichen Befunde, die sich während der Zeit des Behandlungsverlaufs ansammeln. Diese kann z.B. Informationen des Hausarztes, anderer mitbehandelnder Fachdisziplinen, oder gesundheitliche Gutachten beinhalten.

Eine der wichtigsten Informationsquellen dieser Arbeit stellt die Telefonkartei dar. Nach jedem Patientenkontakt, entweder direkt im Hämophilie-Zentrum oder telefonisch, werden die Ergebnisse der Anamneseerhebung, der körperlichen Untersuchung, des Gesprächsablaufs, der Therapieentscheidungen und Therapieempfehlungen und die therapeutischen Interventionen von einem Arzt protokolliert. Die Beschwerden des

Patienten, seine Lebenssituation, die Therapiecompliance, therapeutische Maßnahmen, der Verlauf der Therapie und deren Einschätzung aus ärztlicher Sicht werden dadurch an Hand der Telefonkartei ersichtlich.

Im Jahre 1978 wurde ein computergestütztes Dokumentationssystem für die erhobenen Daten, das IHIS (Interaktives Hämophilie Informationssystem), eingeführt. In dieser Datenbank werden neben den personenbezogenen Daten alle Befunde laborchemischer und mikrobiologischer Untersuchungen, Gelenkstatus, Konzentratlieferungen sowie die Behandlungsprotokolle der Patienten erfasst. Jeder Patient, der eine Heimselbstbehandlung durchführt, ist von Rechtswegen durch den Paragraphen 14 Abschnitt 3 des Transfusionsgesetzes (§ 14, Abs. 3 TFG) verpflichtet, eine regelmäßige und zeitnahe Protokollierung seiner Faktor VIII- bzw. Bypassing-Produkt-Substitutionen durchzuführen (Bundesärztekammer; Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie), 2010). Eine gesonderte Protokollierung wird beim Auftreten von Blutungen verlangt. Hier werden die Blutungsursache, Blutungsschweregrad, Blutungslokalisation und die getroffene therapeutische Maßnahme protokolliert. So kann das IHIS dazu verwendet werden, die laborchemischen und mikrobiologischen Daten im zeitlichen Verlauf zu überblicken und die Dosierung des Faktor VIII Produkts bzw. des Bypassing-Produkts zu jeder Zeit nachzuvollziehen. An Hand der Blutungsprotokolle kann das Auftreten einer Blutung erkannt und die Schwere dieser Blutung beurteilt werden. Grundsätzlich werden schwere Blutungen unmittelbar nach deren Auftreten telefonisch mit dem Hämophilie-Zentrum besprochen.

### 3.3 Analyseparameter

Aus den oben genannten Informationsquellen, d.h. der Patientenakte und dem IHIS, wurden die im Rahmen dieser Promotionsarbeit zu untersuchenden Parameter entnommen und in eine Excel-Tabelle übertragen. Da es im Rahmen der Befunddokumentation dazu kommt, dass viele Parameter in der Patientenakte und gleichzeitig im IHIS zu finden sind, konnte durch diese doppelte Analyse die zu erhebenden Werte auf ihre Richtigkeit überprüft und so die Qualität der Daten erhöht werden. Vor dem Beginn der Datenerhebung wurden die Zielparameter für diese Arbeit definiert. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die Parameter gelegt, die einen vermeint-

lichen Einfluss auf den Erfolg bzw. die Dauer der Immuntoleranztherapie haben könnten.

Hierfür wurden folgende Parameter von den Patienten erhoben: Geburtsdatum, Datum des Auftretens des Hemmkörpers, Beginn der ITT, Zeitpunkt der ersten Dosisreduktion, Zeitpunkt an dem der Hemmkörper einen Titer kleiner eins erreicht, das Ende der ITT, die 12h- und 24h- Recovery im Verlauf der ITT, die verwendeten Faktor VIII Produkte kurz vor und während der ITT, die Bypassing- Produkte während der ITT (FEIBA und NovoSeven), die Anzahl schwerer Blutungen während der ITT, das Vorhandensein eines Portsystems o.ä., die Infektion eines Portsystems o.ä., die Anzahl der Krankenhausaufenthalte, der Hemmkörper-Verlauf während der gesamten ITT und entsprechend der Hemmkörper-Spitzen-Wert, der Genmutationstyp der für die Hämophilie verantwortlich ist, die Patientencompliance, Hepatitis-B-Impfung und der Serostatus bzgl. HBV, HCV und HIV.

### 3.4 Definitionen und Erklärung der erhobenen Parameter

#### 3.4.1 Die Immuntoleranztherapie

Entsprechend der Individualität der Patienten, deren klinischen Verlauf und Lebenssituation wurden die Therapieschemata auf die Patienten abgestimmt, sodass es verschiedene Therapieprotokolle in dieser Arbeit zu unterscheiden gilt: Hochdosierte Therapieprotokolle mit einer zweimal täglichen Faktor VIII Injektion in einem Dosierungsbereich von 70-200 Einheiten je Kilogramm Körpergewicht und Therapieprotokolle, die diese Kriterien nicht erfüllen. Hier wurde der Faktor VIII nur einmal täglich oder seltener substituiert bzw. in einer Dosierung niedriger als 70 E/kgKG.

#### 3.4.2 Erfolgs- bzw. Misserfolgskriterien für die Immuntoleranztherapie

Die Immuntoleranztherapie wird in dieser Arbeit zu dem Zeitpunkt als erfolgreich deklariert, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind: Der Hemmkörper-Titer sollte konstant kleiner 0,6 BE bzw. unter der Nachweisgrenze sein. Die Halbwertszeit des substituierten Faktor VIII und die 12h- sowie 24h- Recovery sollte sich normalisiert haben bzw. sollte die Halbwertszeit >6h betragen. Die Immuntoleranztherapie gilt dann

als beendet, wenn die Faktor VIII Dosierung soweit reduziert werden konnte, dass eine normale prophylaktische Therapie (ca. 35 E/kgKG 3 mal pro Woche) bei dem Patienten möglich ist.

Die Immuntoleranztherapie wird in dieser Arbeit als nicht erfolgreich erklärt, wenn die oben genannten Kriterien trotz intensiver Behandlung, Dosissteigerungen und dem Wechsel des Präparates in einem Zeitraum von ca. 5 Jahren nicht erreicht werden konnten. 2 Patienten konnten nach 5 Jahren die Therapie erfolgreich abschließen, ein Patient nach 6,5 Jahren. Im Langzeitverlauf sind jedoch auch Patienten bekannt, die noch nach diesen 6,5 Jahren auf eine prophylaktische Standardtherapie umgestellt werden konnten. Diese werden hier jedoch auch als nicht erfolgreich gewertet.

Als „ausgeschieden“ werden Patienten bezeichnet, bei denen die Therapie aus diversen Gründen (z.B. Wechsel des Behandlungszentrums bzw. Wechsel des Wohnortes (3 Patienten) oder das Versterben während der Therapie (2 Patienten)) nicht zu Ende gebracht werden konnte.

Vier Patienten befanden sich während der Datenerhebung in der noch nicht abgeschlossenen Immuntoleranztherapie und werden als „ongoing“ bezeichnet.

### 3.4.3 Zeitabschnitte der Immuntoleranztherapie

Zur Beurteilung des Therapieverlaufs und der zeitlichen Einordnung von Einflussparametern, wurden bestimmte Meilensteine bzw. Zeitspannen der Immuntoleranztherapie definiert (siehe Abb. 2). Der erste Zeitabschnitt ist die Zeit zwischen dem Auftreten des Hemmkörpers und dem Beginn der Immuntoleranztherapie (t1). Die zweite Zeitspanne beschreibt die Therapiephase, in der eine konstant hohe Dosis an Faktor VIII substituiert wird, also von Beginn der Immuntoleranztherapie bis zu der ersten Dosisreduktion (t2). In dieser Phase kann der Hemmkörpertiter initial noch ansteigen, was man als sogenannte „Boosterung“ bezeichnet. Im weiteren Verlauf von t2 sollte dann der Hemmkörper sinken und einen Titer < 1BE erreichen. Die dritte Phase stellt die sogenannte „Ausschleichphase“ dar, in der die Faktor VIII Dosierung sukzessiv reduziert wird, bis die Dosierung einer Standardprophylaxe entspricht. Diese Phase beginnt ab der ersten Dosisreduktion und reicht bis zum Ende der Immuntoleranztherapie (t3). Eine vierte Zeitspanne beschreibt die Dauer zwischen

dem Beginn der Immuntoleranztherapie und dem Zeitpunkt, an dem es gelungen ist, dass der Hemmkörper das erste Mal unter 1 Bethesda Einheit liegt und in den folgenden Untersuchungen diese Grenze auch nicht wieder übersteigt (t4).

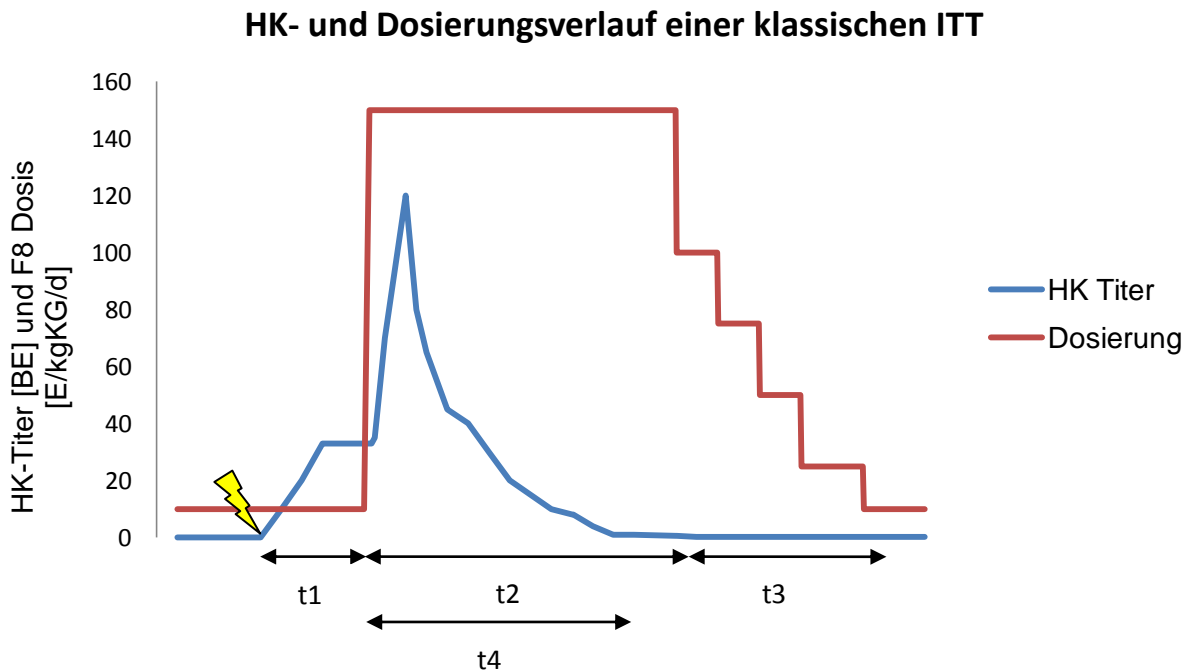


Abb. 2: Dosierung (Einheiten je Kilogramm Körpergewicht pro Tag) und Hemmkörper-Titer (in Bethesda Einheiten) im Verlauf einer klassischen Immuntoleranztherapie. Der „gelbe Blitz“ markiert das Ereignis, dass zum Auftreten des Hemmkörpers geführt hat.

#### 3.4.4 Patientencompliance

Bei der Immuntoleranztherapie, die über eine Heimselbstbehandlung durchgeführt wird, ist das Behandler-Team stark von der Mitarbeit des Patienten (Compliance) abhängig. In dieser Studie wurde jedem Patienten nach dem Ampelsystem eine Farbe zugeordnet, je nachdem wie gut seine Compliance eingeschätzt wurde. Hierbei haben „rote Patienten“ die schlechteste Compliance gezeigt, „grüne Patienten“ die beste Compliance. Patienten, die als „gelb“ deklariert wurden, stehen zwischen rot und grün und haben damit eine mittelmäßige Compliance. Als Kriterien, an Hand derer die Compliance der Patienten beurteilt werden konnte, sind folgende zu nennen: Das regelmäßige und vollständige Ausfüllen der Behandlungsprotokolle, das Einhalten der vereinbarten Arzttermine, das zeitgerechte Kontaktieren der Therapeuten bei Kompl-

kationen wie z.B. Blutungen, die eigenen Aussagen der Patienten zur Therapie-motivation, eventuell die regelmäßige Einnahme anderer verordneter Medikamente, das generelle Therapieverständnis und als wichtigstes Kriterium das regelmäßige Durchführen der Faktor VIII Injektionen. Mängel in der Therapiecompliance können sich auch dann offenbaren, wenn die Therapie im ambulanten Bereich keine Wirkung zeigt, sich jedoch schnell der gewünschte Erfolg unter stationären und damit kontrollierten Bedingungen einstellt.

#### 3.4.5 Faktor VIII-Präparate mit oder ohne vWF

Man unterscheidet Faktor VIII Präparate, die den von-Willebrand-Faktor (vWF) enthalten von Präparaten, die von diesem befreit bzw. ohne dieses assoziierte Protein hergestellt wurden. In dieser Arbeit werden für Patienten, die mehrere unterschiedliche Präparate während ihrer ITT verwendet haben, zwei Fälle konstruiert: Entweder hat ein Patient während seiner ITT nur vWF-haltige Präparate bekommen, oder er hatte mindestens ein vWF-freies Präparat erhalten. Diese zwei Gruppen werden hinsichtlich der Therapiedauer und des Therapieerfolgs verglichen.

#### 3.4.6 Plasmatische und rekombinante Präparate

Plasmatische Präparate sind menschlichen Ursprungs und unterscheiden sich von den gentechnisch hergestellten rekombinanten Faktor VIII Produkten. Bei den plasmatischen Präparaten wird das Faktor VIII Protein aus dem menschlichen Blutserum isoliert, rekombinante Präparate entstehen aus gentechnisch veränderten Bakterienkulturen. In dieser Arbeit wird der Frage nachgegangen, ob die Art des Faktor VIII Präparates (plasmatisch oder rekombinant) einen Einfluss auf den Erfolg bzw. die Dauer der ITT hat. Auch hier wurden zwei Gruppen gebildet: Die eine Gruppe hatte ausschließlich plasmatische Produkte während der ITT bekommen, die zweite Gruppe hatte zu Beginn der Therapie mindestens ein rekombinantes Präparat erhalten. Das bedeutet, dass ein Patient, der während seiner ITT ein rekombinantes und dann ein plasmatisches Präparat erhalten hat, der zweiten Gruppe zugeordnet wurde.



### 3.4.7 Der Hemmkörper

Von einem Hemmkörper wird in dieser Arbeit gesprochen, wenn sich bei einem Patienten wiederholt und reproduzierbar Hemmkörper-Titer  $> 1$  BE messen lassen. Um eine klinische Relevanz aufzuweisen, sollte dieser Hemmkörper die Wirkung des substituierten Faktor VIII negativ beeinflussen und sich laborchemisch in einem positiven Bethesda-Titer ( $>0,6$ ) und in einer verkürzten Recovery und Halbwertszeit des Faktor VIII manifestieren. Hierbei entspricht eine Bethesda-Einheit einem Hemmkörper-Titer, welcher die Faktor-VIII-Aktivität um 50 % reduziert, d.h. zwei Bethesda-Einheiten reduzieren die FVIII-Aktivität auf 25 % usw. Der Start-Hemmkörper bezeichnet den Hemmkörper-Titer unmittelbar zu Beginn der Immuntoleranztherapie. In dieser Arbeit wird auch von dem Hemmkörper-Peak gesprochen, der den höchsten, jemals gemessenen Hemmkörper-Titer bezeichnet, der in den meisten Fällen während der Immuntoleranztherapie gemessen wird. Dieser Hemmkörper-Peak wird auch dazu verwendet, die Patienten in zwei Gruppen zu unterteilen: High-Responder sind Patienten, deren Hemmkörper-Peak mehrmals mit einem Titer größer als 5 Bethesda-Einheiten bestimmt wurde, der Hemmkörper-Peak der Low-Responder übersteigt diese 5 BE-Grenze nicht. Der „Booster-Effekt“, der durch eine hochdosierte Faktor-VIII-Substitution auftreten kann, stellt mathematisch die Differenz zwischen dem Hemmkörper-Peak und dem Hemmkörper-Titer zu Therapiebeginn dar. Negative Einflüsse, wie Blutungen, Operationen oder Infektionen können einen erneuten, meist geringeren Boostereffekt zur Folge haben.

### 3.4.8 Blutungen

Das Vorhandensein eines hochtitrigen Hemmkörpers sorgt dafür, dass der extern zugeführte Faktor VIII unmittelbar seine hämostatische Aktivität verliert, was die Hemmkörperpatienten für das gehäufte Auftreten von Blutungen prädisponiert. Die Inzidenz von Blutungen von Hemmkörperpatienten wird erfahrungsgemäß durch die hochdosierte Gabe an Faktor VIII im Rahmen der Immuntoleranztherapie gesenkt. Bei Blutungen kann ein niedriger Hemmkörpertiter durch eine hochdosierte Faktor VIII Gabe „überspielt“ werden. Bei hochtitrigem Hemmkörper kann hinsichtlich der Blutungsneigung zu Beginn der Immuntoleranztherapie zusätzlich neben dem Faktor VIII auch FEIBA oder NovoSeven zur Blutungsprophylaxe zum Einsatz kommen. Um

die Anzahl der Blutungen während der ITT zu analysieren, wurden in dieser Arbeit ausschließlich die schweren Blutungen betrachtet. Eine Blutung wird als schwer deklariert, wenn sie in einem Gelenk oder inneren Organ stattfindet, ein großes Volumen einnimmt (Faustgröße,  $5 \times 5 \times 5 \text{ cm}^3$ ) oder einer speziellen ärztlichen Intervention bzw. Konsultation bedarf (z.B. die intensive und langdauernde zusätzliche Gabe von FEIBA oder NovoSeven).

#### 3.4.9 Intravasale Kathetersysteme

Die zweimal tägliche Faktor VIII Injektion stellt eine besondere Belastung für das oberflächliche Venensystem der Haut dar. Im Rahmen der Heimselbstbehandlung muss es den Patienten, bzw. Eltern der Kinder gelingen, täglich zweimal den Faktor VIII intravenös zu injizieren. Ist dies auf Grund der schlechten Venensituation auch mit ärztlicher Hilfe nicht mehr möglich, so besteht die Möglichkeit ein intravasales Kathetersystem zu installieren, womit die zweimal tägliche Faktor VIII Substitution garantiert werden kann. Mögliche intravasale Kathetersysteme, die für eine längere Verwendung geeignet sind, sind das Port-System (Port-A-Cath®), seltener der Broviac-Katheter oder der Shaldon-Katheter. Intravasale Kathetersysteme, die nur für einen kurzen Zeitraum zum Einsatz kommen, z.B. im Rahmen eines stationären Aufenthaltes, sind der zentrale Venenkatheter (ZVK) oder der periphere Venenkatheter (PVK). Die Gefahr der lang liegenden intravasalen Kathetersysteme besteht in deren Infektion mit der Komplikation der Entwicklung eines septischen Streuherdes. Daher ist die hygienisch einwandfreie Anwendung derartiger Systeme eine wesentliche Voraussetzung um Infektionen zu vermeiden und bedarf daher einer eingehenden Schulung und Kontrolle. Die Infektion eines solchen Kathetersystems bedarf einer breiten antibiotischen Abdeckung und bei ausbleibender klinischer Besserung einer Erneuerung des Kathetersystems. Zur Differenzierung von anderen Krankheitsauslösern, die ihren Ursprung nicht im Kathetersystem haben (z.B. ein viraler Infekt mit febrilen Temperaturen), wurde in dieser Arbeit nur von einer manifesten Infektion des Kathetersystems ausgegangen, wenn entweder eine breite antibiotische Therapie eingeleitet wurde und/oder das Kathetersystem ausgetauscht werden musste.

#### 3.4.10 Krankenhausaufenthalte

Komplikationen während der Immuntoleranztherapie, wie z.B. schwere Blutungen, Implantationen intravasaler Kathersysteme oder deren Infektion, bedürfen einer stationären Behandlung. Aber auch andere Ursachen neben der Immuntoleranztherapie wie z.B. Zahnextraktionen, schwere Systeminfektionen, innere Erkrankungen und Operationen jeglicher Art können zu einer stationären Aufnahme führen. Eine stationäre Aufnahme zur Erlernung der Heimselbstbehandlung oder eine stationäre rehabilitative Maßnahme wurden in dieser Arbeit nicht als Krankenhausaufenthalt gewertet, da diese zwei Ursachen für einen stationären Aufenthalt nicht als eine Komplikation während der ITT verstanden werden können.

#### 3.4.11 Hepatitis-B-Impfung

Die Hämophilie-Erkrankten gelten als Risikogruppe für jene Erreger, die über den Blutweg übertragen werden, so z.B. auch das Hepatitis B Virus. Die Hepatitis-B-Impfung gilt daher heutzutage als Standardimpfung schon bei Neugeborenen hämophilen Jungen (Steele et al., 2009). In dieser Arbeit wurde untersucht, ob die Hepatitis-B-Impfung einen Einfluss auf den Erfolg und die Dauer der Immuntoleranztherapie ausübt.

Als geimpft werden hier die Patienten bezeichnet, die vor oder während der Immuntoleranztherapie den Impfstoff appliziert bekommen haben. Diese Information konnte entweder aus der Telefonkartei erhoben werden, oder durch die Betrachtung der Hepatitis B Serologie im zeitlichen Verlauf (Anti-HBs, Anti-HBc, HBs-Ag und HBV-DNA-PCR) erkannt und von einer Hepatitis-B-Infektion differenziert werden.

Andere Impfungen wie z.B. die Hepatitis A-, Mumps-, Masern-, Röteln-, Polio-, Pertussis-Impfungen etc. wurden in dieser Arbeit nicht untersucht, da diese Parameter nicht vollständig aus den oben genannten Quellen erhoben werden konnten.

### 3.5 Einschlusskriterien

Da sich diese Arbeit als Ziel gesetzt hat, die Einflussparameter für den Verlauf der Immuntoleranztherapie bei Hämophilie-A-Hemmkörperpatienten zu untersuchen, mussten auf die Gesamtkohorte der Bonner Hämophilie A Patienten gewisse

Einschluss- bzw. Ausschlusskriterien angewendet werden. Für diese retrospektive Studie wurden aus der EDV nur männliche Patienten mit einer angeborenen Hämophilie A eingeschlossen, die eine klinisch relevante Hemmkörperentwicklung aufweisen, sodass letztendlich aus 1279 Hämophilie A Patienten des Bonner Hämophilie-Zentrums 131 Patienten die Einschlusskriterien erfüllt haben. Diese Kohorte umfasst Patienten, mit Therapiebeginn von 1974 bis hin zum Jahre 2008. Drei Patienten aus dieser Kohorte haben nach ihrer ersten Immuntoleranztherapie noch eine zweite erhalten. In dieser Arbeit wurde nur die erste Immuntoleranztherapie der Patienten betrachtet.

Um die Heterogenität des Patientenkollektives weiter einzuschränken, wurden nach der Datenerhebung jene Patienten, die als „previously treated patients“ (PTP) gelten, also der Hemmkörper erst nach der hundertsten Faktor VIII Injektion aufgetreten ist, aus der Studie ausgeschlossen (2 Patienten). Patienten mit einer nicht ausreichenden Behandlungsdokumentation (z.B. wenn die Behandlung in Kooperation mit einem anderen Zentrum, oder in diesem anderen Zentrum fortgesetzt wurde) wurden ebenfalls von der Analyse ausgeschlossen (3 Patienten), genauso wie Patienten, deren Hemmkörper nicht mit einer Form der Immuntoleranztherapie behandelt wurde (z.B. auf Grund der nicht gestatteten Kostenübernahme der Krankenkassen oder bei transientem Hemmkörper) (8 Patienten). So stehen letztendlich 118 Patienten für die statistische Auswertung zur Verfügung.

### 3.6 Kollektiv- und Subgruppenbildung

Für die statistische Analyse wurden die oben genannten 118 Patienten in unterschiedliche Gruppen und Subgruppen unterteilt (siehe Abb. 3). So wurde der Hemmkörper von 82 Patienten (70 %) mit einem hochdosierten Therapieprotokoll ohne eine Unterbrechung behandelt. Hiervon waren 20 Patienten (24 %) Low-Responder und 62 Patienten (76 %) High-Responder. Die zweite gebildete Gruppe, bestehend aus 9 Patienten (8 %), wurde ebenfalls mit einem hochdosiertem Therapieprotokoll behandelt, hier gab es jedoch während der Therapie eine Abweichung von dem hochdosierten Therapieprotokoll (z.B. bei schlechten Venenverhältnissen, die eine zweimal tägliche Faktor VIII Injektion nicht mehr gestatteten, oder andere Gründe, die zu einer Abweichung vom regulären Therapieregime führten). In dieser Gruppe

befinden sich 3 Low-Responder und 6 High-Responder. Die dritte Gruppe beinhaltet jene 27 Patienten (22 %), die eine Therapie erhalten haben, die nicht einem hochdosierten Protokoll entspricht, d.h. die Dosierung unter 70 E/ kgKG liegt bzw. nur einmal täglich oder seltener der Faktor VIII gespritzt wurde. Diese abweichenden Therapieschemata wurden unter dem Begriff „kein Bonn-Protokoll“ (kein BP) zusammengefasst. In dieser Gruppe befinden sich 20 Low-Responder (74 %) und 7 High Responder (26 %).

Für die statistische Auswertung des Einflusses eines Parameters auf den Erfolg müssen die Gruppen von High- und Low-Respondern isoliert betrachtet werden, da Low-Responder eine solch gute Ausgangsprognose aufweisen, dass hier in den aller meisten Fällen mit einem Therapieerfolg zu rechnen ist.

Es ist zu beachten, dass im Bonner Hämophilie-Zentrum auch bei einem ungünstigen Verlauf der ITT sehr lange versucht wird, die Immuntoleranz des Patienten zu erreichen. Dadurch kann bei nicht erfolgreichen Patienten die Therapie eine lange Zeit in Anspruch nehmen. Daher sind für die statistische Auswertung des Einflusses eines Parameters auf die Therapiedauer, nur jene Subgruppen sinnvoll, bei denen letztendlich die Therapie als erfolgreich deklariert werden konnte.

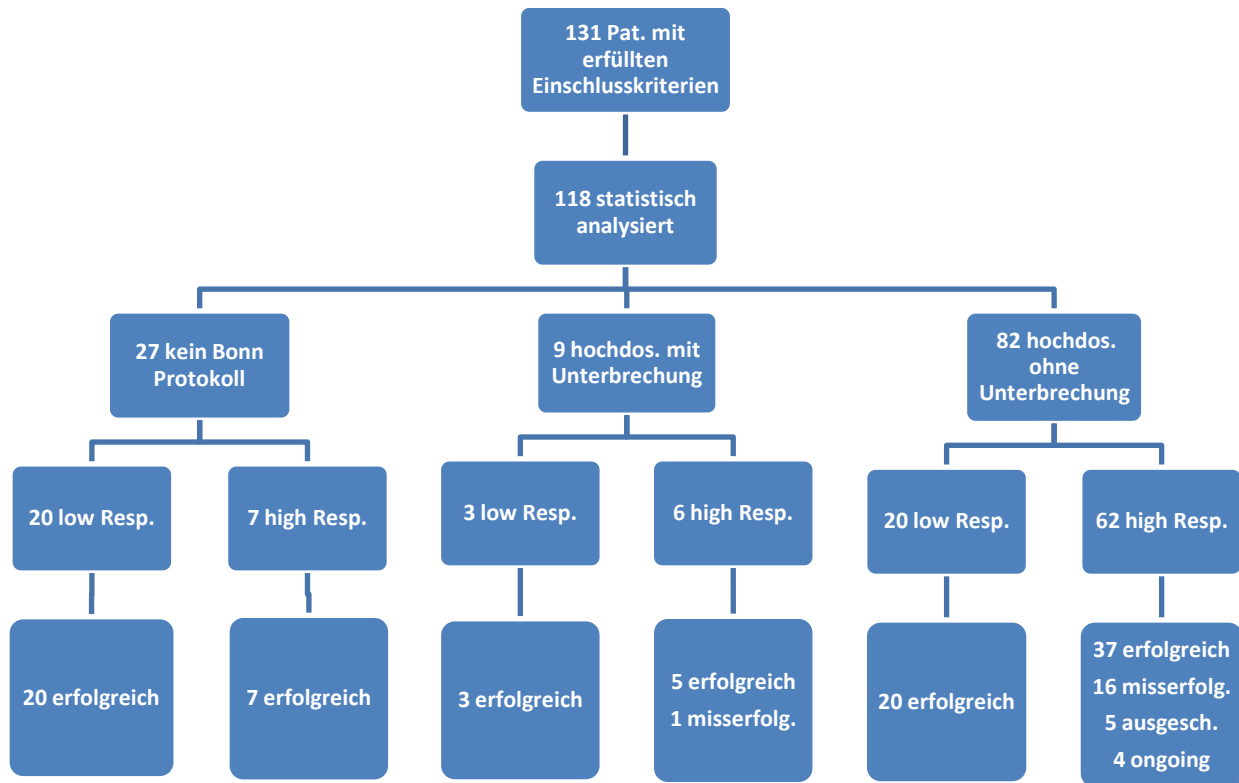


Abb. 3: Gruppeneinteilung des Bonner Gesamtkollektivs

### 3.7 Art der Studie

Da die Parameter schon vor Beginn der Untersuchung erhoben wurden, handelt sich bei dieser Arbeit um eine retrospektive Studie. Eine prospektive Studie unterscheidet sich hierzu, dass hier die Zielparameter zuerst festgelegt werden und anschließend gezielt ein spezielles Kollektiv diesbezüglich untersucht wird (Grimes und Schulz, 2002). Eine prospektive Studie hat damit eine höhere Validität. Da jedoch im Bonner Hämophilie-Zentrum schon sehr früh mit der systematischen, strukturierten und nahezu vollständigen Datenerhebung bei den Hemmkörper-Hämophilie-Patienten begonnen wurde, hat diese retrospektive Studie eine ebenfalls sehr hohe Validität. Mit retrospektiven Studien werden Hypothesen unterstützt, der Beweis einer Aussage ist mit ihnen jedoch nicht möglich.

### 3.8 Methoden der statistischen Analyse

Die erhobenen Daten wurden in eine Excel-Tabelle übertragen und dann in das statistische Analyseprogramm SPSS Statistics transformiert. Gewisse Fragestellungen wurden mit den Excelfunktionen SSC-Stat und QI Macros 2010 bearbeitet. Die statistischen Ergebnisse bestehen aus einem deskriptiven Teil und den statistischen Tests zur Wahrscheinlichkeitsprüfung bestimmter Hypothesen und Fragestellungen. Für die deskriptive Statistik wurden die jeweiligen absoluten und relativen Häufigkeiten (Frequenzen), Grenzwerte (Maximum und Minimum), der Durchschnitt, der Median, das 25 %- und 75 %- Quantil und die Standardabweichung ermittelt. Die jeweiligen Tests orientieren sich an der Art der Variable: Die Beeinflussung des Therapieerfolgs durch qualitative Parameter, wie z.B. das Vorhandensein einer Hepatitis-C-Infektion, wurden mit Hilfe der Vier-Felder-Tafel bzw. dem Chi-Quadrat-Test ( $\chi^2$ -Test) beurteilt. Ist eines der Felder der Vier-Felder-Tafel mit weniger als fünf Patienten besetzt, so wurde der exakte Fisher-Test durchgeführt um die Validität der Aussage zu erhöhen.

Die statistische Prüfung von Hypothesen bzgl. der Beeinflussung der Therapiedauer durch qualitative Parameter mit zwei Ausprägungen (z.B. die Therapiedauer von HIV positiven und HIV negativen Patienten) wurde durch die Anwendung von t-Tests realisiert. Als Vortest zur Prüfung der Varianzendifferenz wurde der Levene's test durchgeführt. Bestehen bei den qualitativen Parametern mehr als zwei Ausprägungen, wie z.B. bei der Compliance (rot, gelb, grün) wurde als statistischer Rechentest eine einfaktorielle ANOVA (eine Varianzanalyse, engl.: analysis of variance) verwendet.

Der Zusammenhang der Therapiedauer mit einer quantitativen stetigen Variable, wie z.B. der Hemmkörper-Titer zu Therapiebeginn, wurde mit Hilfe der linearen Regression, einer speziellen Form der Regressionsanalyse, statistisch untersucht. Durch die anschließende Berechnung des Korrelationskoeffizienten, kann auch geklärt werden, ob es sich um einen positiven oder negativen Zusammenhang handelt.

Als Maß für die maximal zulässige Irrtumswahrscheinlichkeit für die Durchführung statistischer Tests, wurde in dieser Arbeit durchgängig ein Signifikanzniveau  $\alpha$  von 0,05 (5 %) festgelegt. Um abschließend jene Parameter herauszufinden, die eigenständig bzw. unabhängig von den anderen Einflussparametern die Zielgröße

beeinflussen, wurde für den Therapieerfolg eine schrittweise logistische Regression durchgeführt. Entsprechend kam für die Zielgröße „Therapiedauer“ ein lineares Modell in Form einer schrittweisen Regressionsanalyse zum Einsatz.



## 4. Ergebnisse

### 4.1 Erfolg und Dauer in den einzelnen (Sub)Gruppen

Von den 118 Patienten, die für die statistische Analyse verwendet wurden, konnte bei 92 Patienten ein Therapieerfolg erreicht werden (78 %), 17 Patienten sind nicht erfolgreich verlaufen (14,4 %), 5 Patienten sind während der Therapie ausgeschieden (4,2 %) und bei 4 Patienten (3,4 %) war die Immuntoleranztherapie während der Datenerhebung noch nicht abgeschlossen (siehe Abb. 4).

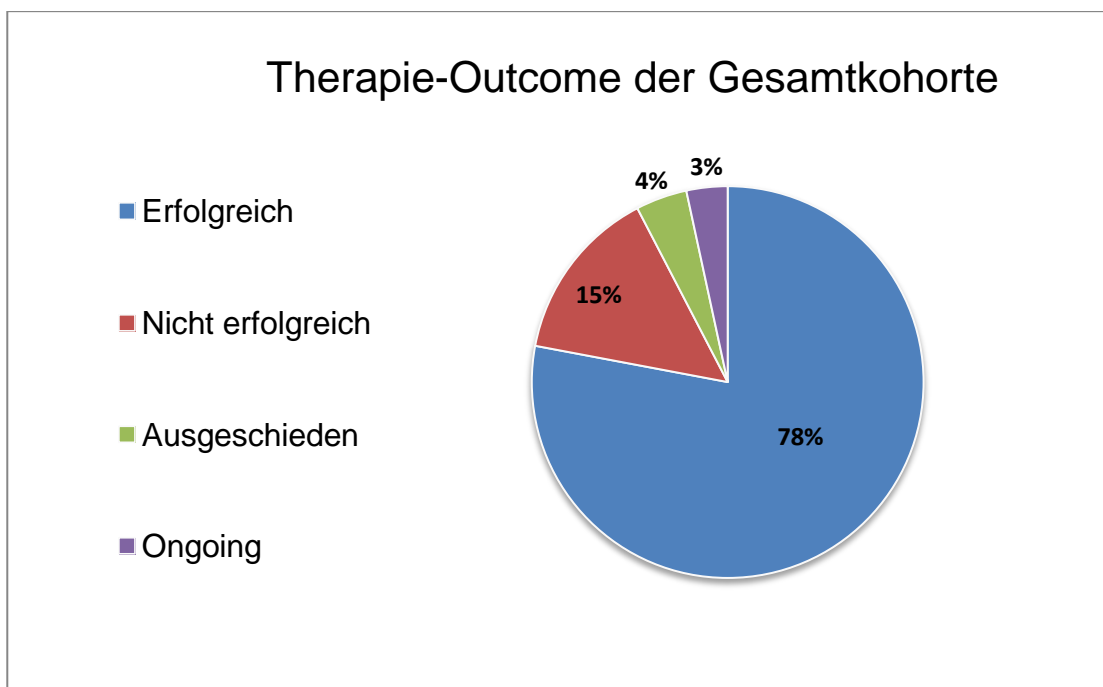


Abb. 4: Prozentuales Therapie-Outcome bezogen auf die Studien-Gesamtkohorte

Das Gesamtkollektiv mit 118 Patienten setzt sich aus 75 High- und 43 Low-Respondern zusammen. Betrachtet man die Erfolgsquote bei den High- und Low-Respondern getrennt, so stellt man fest, dass jeder der 43 Low-Respondern die Therapie erfolgreich abschließen konnte.

Von den restlichen 75 High-Respondern sind 5 Patienten ausgeschieden und 4 Patienten befinden sich noch in der Therapie („ongoing“), sodass 66 Patienten dem Therapieergebnis „erfolgreich“ oder „nicht erfolgreich“ zugeordnet werden können. Von diesen 66 Patienten sind 49 Patienten erfolgreich (74,2 %), 17 Patienten sind nicht erfolgreich (25,7 %).

Zwischen den drei Gruppen der unterschiedlichen Therapieprotokolle (hochdosiertes Protokoll ohne Unterbrechung (82 Patienten) [78,1 % erfolgreich], hochdosiertes Protokoll mit Unterbrechung (9 Patienten) [89 % erfolgreich] und kein Bonn-Protokoll (27) [100 % erfolgreich]) gibt es einen signifikanten Unterschied in der Erfolgsquote ( $p = 0,0016$ ), der jedoch durch die inhomogene Verteilung von High- und Low-Respondern in diesen Gruppen zu Stande kommt.

Die durchschnittliche Therapiedauer aller erfolgreichen Patienten beträgt 676 Tage (das entspricht 1 Jahr, 10 Monaten und einer Woche), der Median liegt bei 532 Tagen (das entspricht 1 Jahr, 5 Monaten und 15 Tagen).

Die durchschnittliche Therapiedauer aller Low-Responder, die auch alle erfolgreich verlaufen sind, beträgt 511 Tage (das entspricht 1 Jahr, 4 Monate und 24 Tagen), der Median liegt bei 399 Tagen (das entspricht 1 Jahr, 1 Monat und 4 Tagen).

Betrachtet man die Therapiedauer der Subgruppe der High-Responder, die erfolgreich waren und keine Unterbrechung ihres hochdosierten Therapieregimes hatten (37 Patienten), so lässt sich eine durchschnittliche Therapiedauer von 788 Tagen bestimmen (das entspricht 2 Jahren, 1 Monat und 28 Tagen). Der Median liegt bei 700 Tagen (das entspricht 1 Jahr und 11 Monaten) (vgl. Tab. 1).

Zusammenfassend bedeutet dies, dass die Low-Responder verglichen mit den erfolgreichen High-Respondern eine signifikant kürzere Therapiedauer benötigen, bis dass sie die Erfolgskriterien erfüllen (Ergebnis des t-Tests für unverbundene Stichproben  $p = 0,0163$ ) (siehe Abb. 5).

| Gruppe                                    | Patienten-<br>anzahl [n] | Mittelwert<br>(ITT-Dauer [d]) | Median<br>(ITT-Dauer [d]) |
|---|--------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| Alle erfolgreichen Patienten              | 92                       | 676                           | 532                       |
| Erfolg. High-Responder ohne Unterbrechung | 37                       | 788                           | 700                       |
| Erfolg. High-Responder mit Unterbrechung  | 8                        | 1023                          | 942                       |
| Erfolgreiche Low-Responder                | 43                       | 511                           | 399                       |

Tab. 1: Median und Mittelwerte der Therapiedauer (in Tagen [d]) der erfolgreichen Therapiegruppen

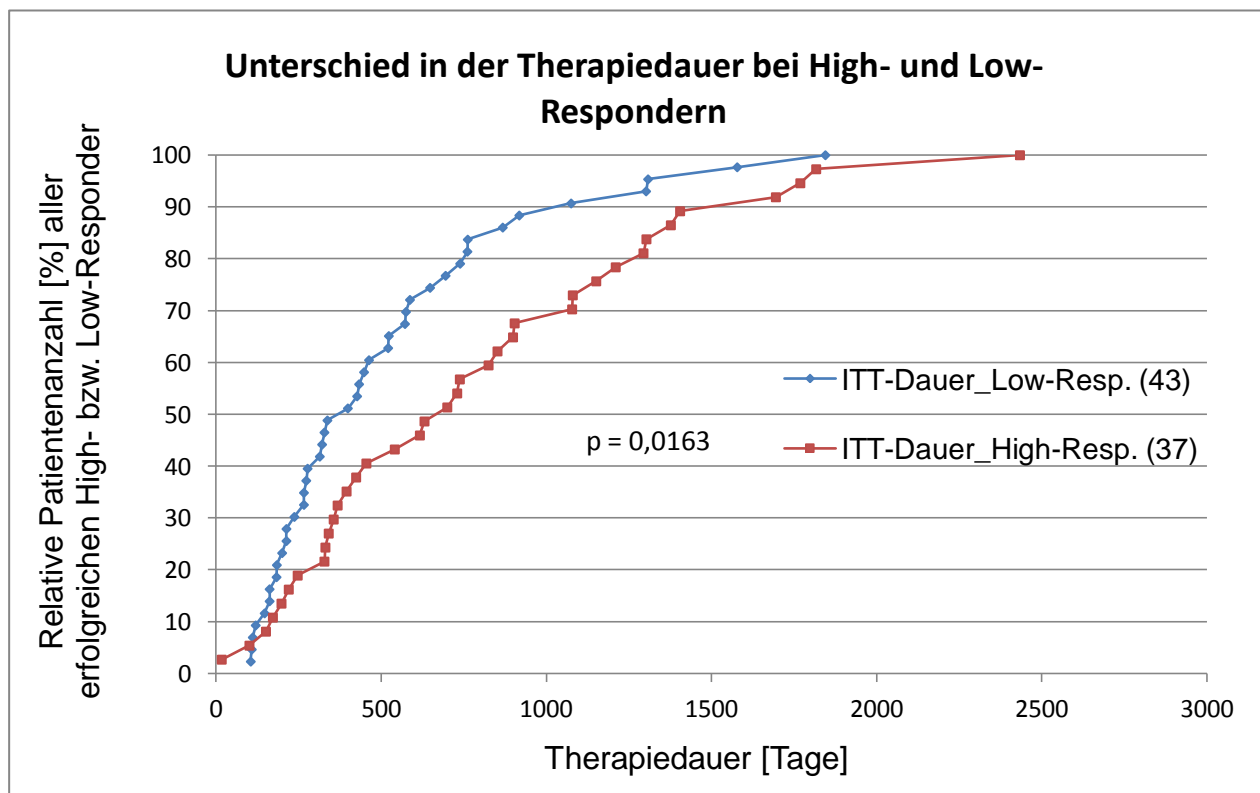


Abb. 5: Empirische Verteilungsfunktion: Kumulative Darstellung der Therapiedauer bis zum Erfolg bei den High- (rote Kurve) und Low-Respondern (blaue Kurve)

## 4.2 Die Zeitabschnitte der Immuntoleranztherapie

### 4.2.1 Deskriptive Statistik der Zeitabschnitte t2, t3 und t4

Unter den 87 Patienten, bei denen es im Verlauf der Immuntoleranztherapie möglich war die Dosierung zu reduzieren, sind letztendlich 85 Patienten (97,7 %) erfolgreich verlaufen. Nur 2 Patienten waren nicht erfolgreich, obwohl sich zur Zeit der ersten Dosisreduktion ein günstiger Verlauf abzeichnete.

Unter den 50 High-Responder-Patienten, bei denen es innerhalb der Immuntoleranztherapie zu einer Dosisreduktion kam, dauerte es durchschnittlich 442 Tage (53 % der Gesamt-ITT-Dauer), bis diese erste Dosisreduktion erreicht werden konnte (t2). Bei 37 Low-Respondern ließ sich eine Dosisreduktion erkennen, hier wurden durchschnittlich 307 (57 % der Gesamt-ITT-Dauer) Tage benötigt, bis die Dosierung reduziert werden konnte.

t3 stellt den zweiten Abschnitt der Immuntoleranztherapie dar, die die Zeitspanne von der ersten Dosisreduktion bis zum Ende der Immuntoleranztherapie (die sog. „Ausschleichphase“) umfasst. Bei den High-Respondern dauerte es ab der ersten Dosisreduktion 396 Tage (47 % der Gesamt-ITT-Dauer), bei den Low-Respondern 232 Tage (43 % der Gesamt-ITT-Dauer) bis das Ende der ITT erreicht wurde.

Addiert man t2 und t3, so erhält man die Gesamtdauer der Immuntoleranztherapie (vgl. hierzu Abb. 2).

Eine weitere Zeitspanne erstreckt sich vom Beginn der Immuntoleranztherapie bis zu dem Zeitpunkt, an dem der Hemmkörper einen Titer  $< 1$  BE aufweist (t4). Bei den 56 High-Respondern, bei denen diese Hemmkörper-Degradation  $< 1$  BE gelungen ist, dauerte es durchschnittlich 303 Tage bis dieser Hemmkörperbereich erreicht wurde. Bei den 54 High-Respondern mit einer abgeschlossenen Therapie (2 Patienten, die sich noch in der Therapie befinden, fallen hier aus der Analyse), lässt sich somit errechnen, dass nach durchschnittlich 32,5 % der Gesamttherapiedauer der Hemmkörperbereich von  $< 1$  BE erreicht wurde. Bei den 43 Low-Respondern dauerte es durchschnittlich 77 Tage, bis der Hemmkörper die Grenze von 1 BE unterschritten hat. Dies entspricht 15,1 % der gesamten ITT-Dauer (vgl. Tab. 2).

| Gruppe   | t1 [d]   | t2 [d]   | t3 [d]   | t4 [d]   |
|--|----------|----------|----------|----------|
| <b>Alle High-Responder</b>                           | 516 (75) | 422 (50) | 396 (50) | 303 (56) |
| <b>Alle Low-Responder</b>                            | 115 (43) | 307 (37) | 232 (37) | 77 (43)  |
| <b>Erfolg. High-Responder<br/>ohne Unterbrechung</b> | 325 (37) | 385 (37) | 402 (37) | 147 (37) |
| <b>Patienten ohne Bonn<br/>Protokoll</b>             | 176 (27) | 308 (21) | 200 (21) | 116 (26) |

Tab. 2: Vergleich der unterschiedlichen Therapiegruppen bzgl. der Dauer der jeweiligen Therapiephasen. Für diese Darstellung wurden nur Patienten verwendet, die die jeweils definierten Meilensteine der Immuntoleranztherapie erreicht haben. Die Zahlen in Klammern zeigt die Anzahl an Patienten, aus denen der davor stehende Mittelwert gebildet wurde.

#### 4.2.2 Der Einfluss von t1 auf die Dauer und den Erfolg der Immuntoleranztherapie

Die Zeitspanne zwischen dem Auftreten des Hemmkörpers und dem Beginn der Immuntoleranztherapie wird in dieser Arbeit als t1 bezeichnet. Heutzutage wird versucht, die Therapie bei einem Hemmkörper-Titer von  $< 10$  BE zu beginnen. Liegt der Hemmkörper noch über diesen 10 BE, wird der Beginn der ITT nach hinten verschoben. Unter regelmäßigen Hemmkörper-Titer-Kontrollen wird dann in der Zeit bis zum Beginn der ITT dem Patienten kein Faktor VIII mehr verabreicht, bis sein Hemmkörpertiter die 10-BE-Grenze unterschritten hat und die ITT begonnen werden kann (Haya et al., 2007; Hay et al., 2006). Zur Behandlung von Blutungen wird in dieser Phase ausschließlich Novo Seven verwendet, da bei der Anwendung von Feiba wegen des Gehaltes geringer Mengen an Faktor VIII mit Boostereffekten (und damit einer weiteren Verzögerung des Therapiebeginns) gerechnet werden muss.

In der Gesamtkohorte mit 118 Patienten, die in dieser Arbeit analysiert wurden, vergingen durchschnittlich 369 Tage, bis die Immuntoleranztherapie initiiert wurde. Jedoch besteht hier eine große zeitliche Spanne: Bei 32 Patienten wurde die Therapie innerhalb der ersten 10 Tage begonnen, bei 7 Patienten dauerte es mehr als 3 Jahre. Ein Low-Responder-Patient führte 34 Jahre ein Leben mit einem niedrigtitrigen Hemmkörper, bevor seine Immuntoleranztherapie begonnen wurde. Der Median der Gesamtkohorte für t1 liegt bei 27 Tagen.

In der Subgruppe der High-Responder mit und ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls (68 Patienten) wurden für die erfolgreichen (42 Patienten) und nicht erfolgreichen Patienten (17 Patienten) die Mittelwerte von  $t_1$  gesondert bestimmt und mit Hilfe eines t-Tests auf einen signifikanten Unterschied untersucht. Da die Mittelwerte nahezu gleich sind (380,5 und 380,7 Tage) konnte hier kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ( $p = 0,9995$ ).

Zur Klärung der Frage, ob die Zeit zwischen dem Auftreten des Hemmkörpers und dem Therapiebeginn einen Einfluss auf die Therapiedauer ausübt ( $t_1$ ), wurde mit Hilfe einer linearen Regressionsanalyse der Zusammenhang dieser zwei Zeitspannen untersucht. Hierbei konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen  $t_1$  und der Therapiedauer bei der Subgruppe der 37 High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas herausgefunden werden ( $p = 0,8025$ ).

Auch in der Subgruppe der 43 Low-Responder konnte kein Zusammenhang zwischen  $t_1$  und der Therapiedauer festgestellt werden ( $p = 0,3903$ ).

#### 4.3 Die Patientencompliance

Die Patienten des Gesamtkollektivs wurden nach einem „Ampelsystem“ entsprechend ihrer Compliance in 3 Gruppen unterteilt: Patienten mit einer schlechten Compliance sind in der „roten Gruppe“ (10 Patienten (8,6 %)), mit einer mittelmäßigen Compliance in der „gelben Gruppe“ (24 Patienten (20,6 %)) und mit einer guten Compliance wurden die Patienten der „grünen Gruppe“ zugeteilt (82 Patienten (70,7 %)). Von zwei Patienten konnte die Compliance nicht eruiert werden.

Unterteilt man die Gesamtkohorte in High- und Low-Responder, so fällt eine ungleiche Verteilung der Compliance in diesen zwei Gruppen auf: Nur unter den High-Respondern gibt es Patienten mit einer „roten Compliance“ (10 Patienten), unter den Low-Respondern hat kein Patient eine „rote Compliance“. 19 High-Responder und 5 Low-Responder weisen eine „gelbe Compliance“ auf. Somit haben unter den High-Respondern 13,3 % eine „rote Compliance“, 25,3 % eine „gelbe“ und 61,3 % eine „grüne Compliance“. Unter den Low-Respondern haben 12,2 % eine gelbe Compliance, 87,8 % eine grüne Compliance (siehe Abb. 6).

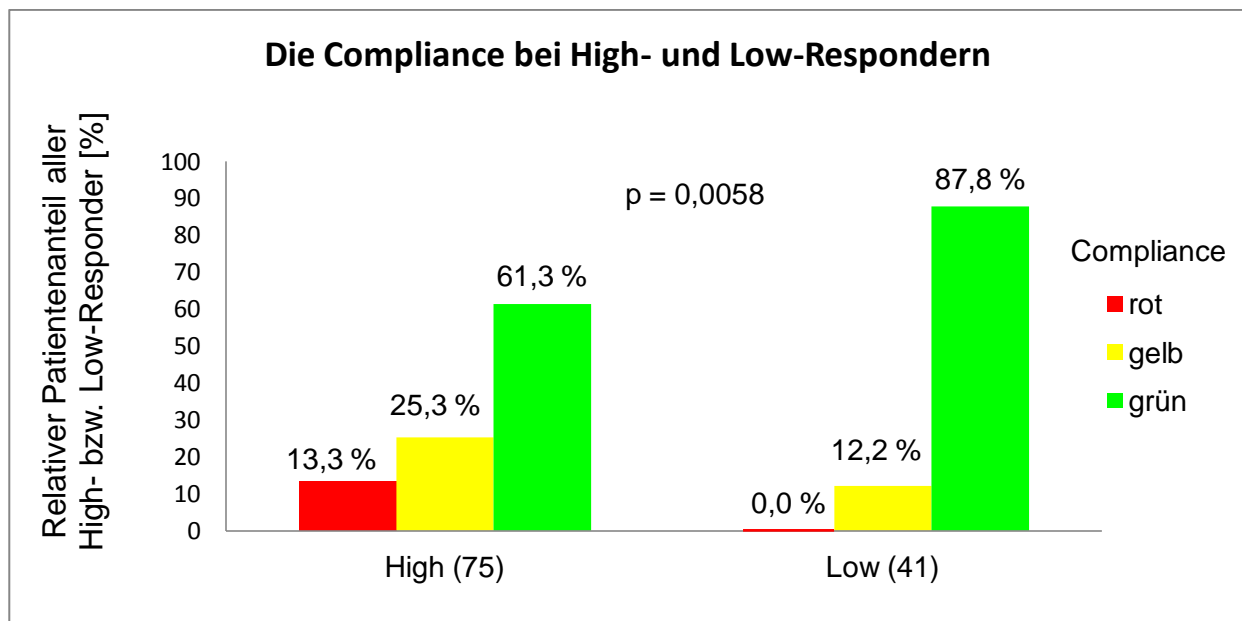


Abb. 6: Darstellung der Compliance bei den High- und Low-Respondern nach dem Ampel-System

Somit lässt sich auch ein statistisch belegbarer Unterschied in der Compliance zwischen High und Low-Respondern nachweisen ( $p = 0,0058$ ), wobei die Low-Responder eine durchschnittlich bessere Compliance aufweisen.

#### 4.3.1 Einfluss der Patientencompliance auf den Therapieerfolg

Für die Analyse des Einflusses der Therapiecompliance auf den Erfolg der Immuntoleranztherapie wurde die Gruppe, bestehend aus High-Respondern mit und ohne eine Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas verwendet. Von diesen 68 Patienten hatten 10 Patienten eine rote Compliance, von denen wiederum 4 erfolgreich und 4 nicht erfolgreich verlaufen sind (1 Patient ist ausgeschieden, ein Patient ist „ongoing“). Auch bei den 18 „gelben“ Patienten ergibt sich ein 1:1 Verhältnis aus 7 erfolgreichen und 7 nicht erfolgreichen Patienten (2 Patienten sind hier ausgeschieden, 2 „ongoing“). Bei den restlichen 40 Patienten wurde eine grüne Compliance bestimmt, von denen 31 einen erfolgreichen und 6 Patienten einen nicht erfolgreichen Therapieabschluss haben (2 Patienten sind ausgeschieden, 1 Patient ist „ongoing“). In der Gruppe der Patienten mit der grünen Compliance ergibt sich somit ein Verhältnis von erfolgreich zu nicht-erfolgreich verlaufenen Immuntoleranztherapien von ungefähr 4:1 (siehe Abb. 7).

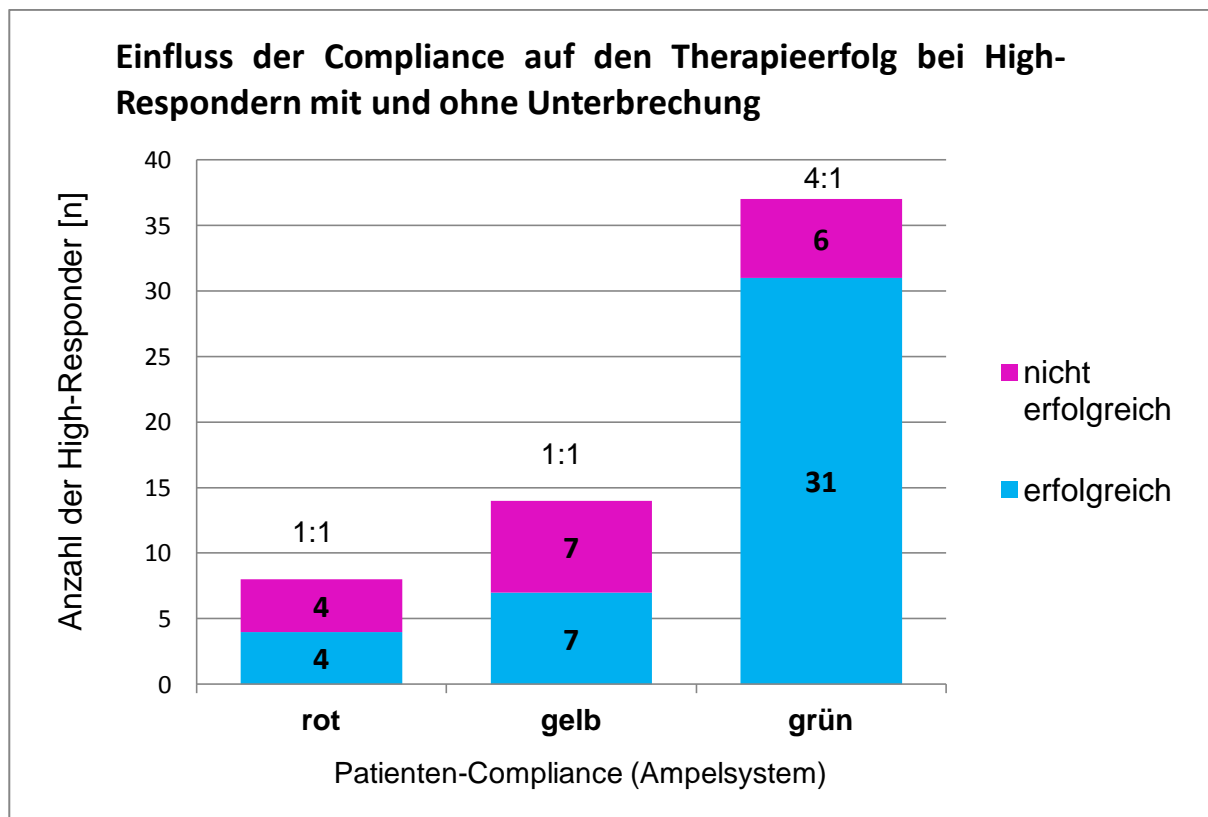


Abb. 7: Erfolgsquote der Immuntoleranztherapie in Abhängigkeit der Therapie-compliance

Diese ungleiche Verteilung des Therapieerfolgs lässt sich auch statistisch belegen ( $p = 0,0215$ ), wobei die Patienten mit der grünen Compliance die beste Erfolgsquote aufweisen. Auffällig ist, dass in dieser kleinen Subgruppe, kein signifikanter Unterschied in der Erfolgsquote zwischen Patienten mit einer roten und einer gelben Compliance zu finden ist. Somit suggerieren diese Ergebnisse, dass jede Abweichung von einer guten („grünen“) Compliance einen negativen Einfluss auf den Erfolg hat.

#### 4.3.2 Einfluss der Patientencompliance auf die Therapie-Dauer

In der Subgruppe der 37 erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas zeigten 4 Patienten eine rote Compliance, 6 Patienten eine gelbe und 27 Patienten eine grüne Compliance. Zwischen diesen drei Gruppen konnte, unter Anwendung einer ANOVA, kein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer festgestellt werden ( $p = 0,6425$ ). Auch die Gegenüberstellung der Patienten mit einer nicht-optimalen Compliance (gelbe plus rote Compliance) im



Vergleich zu der Therapiedauer von Patienten mit einer grünen Compliance, konnte keinen Einfluss der Compliance auf die Therapiedauer nachweisen ( $p = 0,7020$ ).

Auch in der Subgruppe der 43 Low-Responder konnte zwischen den Patienten mit einer gelben (5 Patienten) im Vergleich zu den Patienten mit einer grünen Compliance (36 Patienten) kein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer festgestellt werden ( $p = 0,8852$ ).

#### 4.4 Von-Willebrand-Faktor haltige Präparate/ Von-Willebrand-Faktor freie Präparate

##### 4.4.1 Einfluss eines vWF-haltigen Präparates auf den Therapieerfolg

In der Subgruppe der High-Responder hatten 55 Patienten eine Immuntoleranztherapie, die ausschließlich mit vWF-haltigen Präparaten durchgeführt wurde. Davon waren 43 Patienten erfolgreich (78,2 %), 12 Patienten nicht erfolgreich (21,8 %). 11 High-Responder hatten eine Therapie, in der mindestens ein vWF-freies Präparat eingesetzt wurde, davon sind 6 Patienten erfolgreich (54,5 %) und 5 Patienten nicht erfolgreich (45,5 %) verlaufen. Unter Anwendung des Chi<sup>2</sup>-Tests bzw. Fisher-Exakt-Test konnte hier kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Therapieerfolg und dem vWF-Gehalt des Therapiepräparates festgestellt werden (Chi<sup>2</sup>:  $p = 0,1017$ ).

##### 4.4.2 Einfluss eines vWF-haltigen Präparates auf die Therapiedauer

In der Subgruppe der erfolgreichen High-Responder mit einem konstant hochdosierten Therapieschema, hatten 31 Patienten eine ITT mit ausschließlich vWF-haltigen Präparaten, 6 Patienten hatten mindestens ein vWF-freies Präparat. Zwischen diesen zwei Gruppen lässt sich statistisch nur eine Tendenz erkennen ( $p = 0,062$ ), wobei die Patienten mit vWF-haltigen Präparaten eine durchschnittliche Therapiedauer von 712 Tagen, die Patienten mit vWF-freien Präparaten eine durchschnittliche Therapiedauer von 1183 Tagen aufweisen. Diese Tendenz lässt sich auch erkennen, wenn nur die Patienten mit Therapiebeginn ab 1990 betrachtet ( $p = 0,076$ ) werden.

In der Subgruppe der 43 Low-Responder ist es bei diesem Untersuchungsparameter besonders wichtig zwischen den Patienten mit Therapiebeginn vor 1990 (22 Patienten) und ab 1990 (21 Patienten) zu unterscheiden (vgl. Abschnitt 4.12). Die 7 Patienten mit einem vWF-freien Präparat hatten alle ihren Therapiebeginn ab 1990. Somit wurde für

die Analyse auch nur diese Subgruppe mit Therapiebeginn ab 1990 gewählt. Die 13 Patienten mit einem vWF haltigen Präparat (durchschnittliche Therapiedauer: 748 Tage) unterscheiden sich nicht signifikant von der Therapiedauer der 7 Patienten mit einem vWF-freien Präparat (durchschnittliche Therapiedauer: 763 Tage) ( $p = 0,9488$ ).

#### 4.5 Plasmatische Faktor VIII Präparate/ rekombinante Faktor VIII Präparate

##### 4.5.1 Einfluss eines rekombinanten FVIII Präparat auf den Therapieerfolg

Von den 62 High-Responder-Patienten, die ein durchgängig hochdosiertes Therapieprotokoll erhalten haben, erhielten 53 Patienten ausschließlich plasmatische Produkte während ihrer Therapiezeit (85,5 %). Von diesen 53 Patienten sind 33 erfolgreich, 12 nicht erfolgreich, 4 „ongoing“ und 4 Patienten sind ausgeschieden. 9 Patienten erhielten eine Therapie, bei der mindestens ein rekombinantes Präparat zu Beginn der ITT verwendet wurde. Von diesen 9 Patienten waren 4 Patienten erfolgreich, 4 nicht erfolgreich und ein Patient ist während der Therapie ausgeschieden.

Unter Anwendung des Fisher-Exakt-Tests, konnte kein signifikanter Unterschied in den Gruppen mit plasmatischen bzw. rekombinanten Faktor VIII Präparaten bzgl. des Therapieerfolges festgestellt werden ( $p = 0,2239$ ).

Betrachtet man die Ursache, wieso das Faktor VIII Präparat gewechselt wurde und in welcher Reihenfolge die unterschiedlichen Faktor VIII Präparate verabreicht wurden, so stellt man fest, dass 13 Patienten ihre ITT mit einem rekombinanten Präparat begonnen haben. Davon konnten 4 Low-Responder und 2 High-Responder ausschließlich mit diesem rekombinanten Präparat die Therapie erfolgreich abschließen. 6 Patienten mussten wegen des Nicht-Ansprechens der Therapie auf ein plasmatisches Präparat umgestellt werden. Davon sind dann noch 2 Patienten erfolgreich und 4 Patienten nicht erfolgreich verlaufen (siehe Abb. 8).

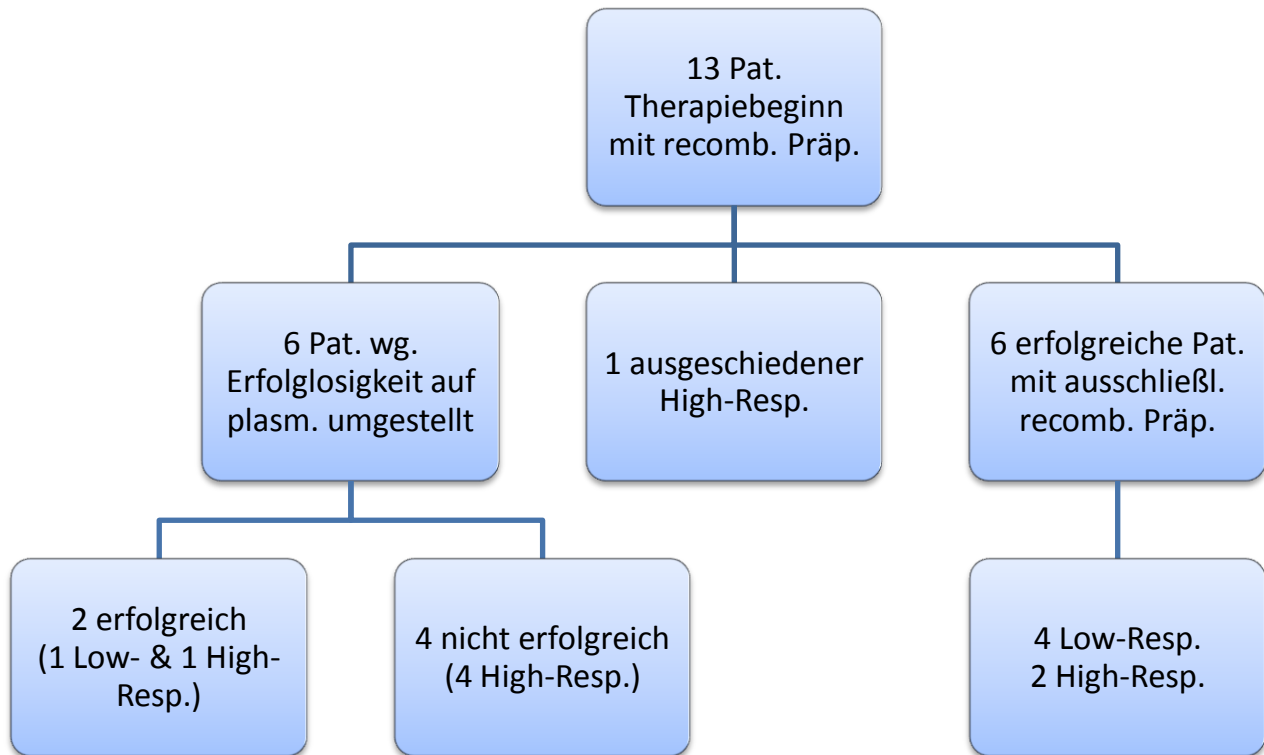


Abb. 8: Therapieverlauf der Bonner Hemmkörperpatienten, in deren Immuntoleranztherapie ein rekombinantes Präparat zum Einsatz kam

Es lässt sich erkennen, dass 5 High-Responder, die die Therapie mit einem rekombinanten Präparat begonnen haben, initial nicht auf das Präparat angesprochen haben. 2 High-Responder konnten mit diesem rekombinanten Präparat von Beginn der Therapie bis zum Therapieerfolg therapiert werden.

#### 4.5.2 Einfluss eines rekombinanten FVIII Präparat auf die Therapiedauer

Für die folgende Analyse wurden nur Patienten ausgewählt, deren Therapiebeginn nach 1990 stattgefunden hat: Werden in der Subgruppe der erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls jene Patienten mit plasmatischen und rekombinanten Präparaten bzgl. der Therapiedauer verglichen, so lässt sich ein statistisch signifikanter Unterschied feststellen ( $p = 0,018$ ). Hierbei beträgt die durchschnittliche Therapiedauer der Patienten mit plasmatischen Präparaten 820 Tage und durchschnittlich 1599 Tage für die Patienten, in deren ITT ein rekombinantes Präparat verwendet wurde. Jedoch ist die Gruppe der Patienten mit

rekombinanten Präparaten (3 Patienten) im Vergleich zu der Anzahl an Patienten mit plasmatischen Präparaten (17 Patienten) relativ klein (siehe Abb. 9).

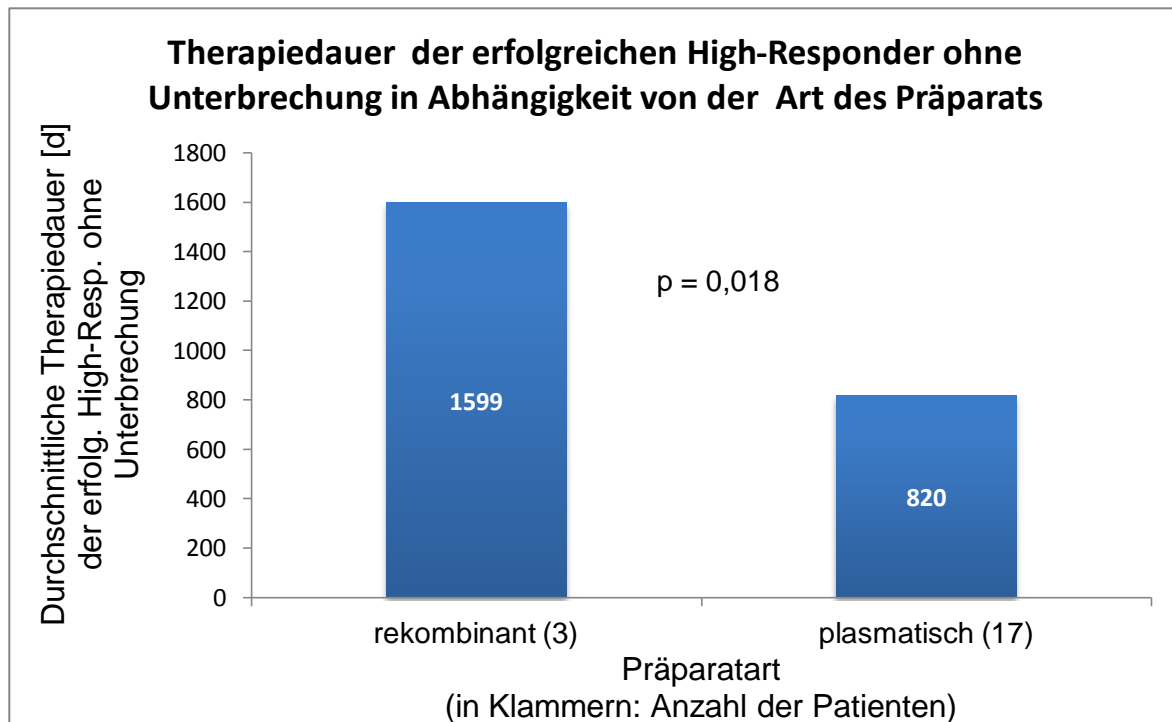


Abb. 9: Durchschnittliche Therapiedauer jener erfolgreichen High-Responder, in deren Therapie ein plasmatisches bzw. rekombinantes Präparat eingesetzt wurde

In der Subgruppe der Low-Responder wurde die selbe statistische Analyse bei den Patienten mit Therapiebeginn nach 1990 durchgeführt, hier konnte jedoch kein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer von Patienten mit plasmatischen und rekombinanten Präparaten festgestellt werden ( $p = 0,5267$ ). Auch hier liegt eine für die statistische Auswertung ungünstige Verteilung vor: In der Low-Responder-Gruppe haben 5 Patienten ein rekombinantes und 16 Patienten ein plasmatisches Präparat erhalten.

#### 4.6 Der Hemmkörper

Wie im Abschnitt 4.1 gezeigt wurde, besteht ein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer und im Therapieerfolg zwischen der Gruppe der Low-Responder (HK-Titer  $< 5$  BE) und der Gruppe der High-Responder (HK-Titer  $\geq 5$  BE). Es stellt sich nun die Frage, ob auch innerhalb dieser zwei Gruppen die Höhe des Hemmkörpers einen Einfluss auf den Therapieerfolg bzw. die Therapiedauer ausübt.

#### 4.6.1 Einfluss des höchsten Hemmkörpertiters auf den Therapieerfolg

In der Subgruppe der High-Responder ohne eine Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls, lag der Mittelwert des höchsten Hemmkörper-Titers unter den 37 erfolgreichen Patienten bei 415 BE (Median: 53 BE). Für die 16 nicht erfolgreichen Patienten dieser Subgruppe liegt dieser Wert bei 1000 BE (Median: 125 BE). Der Zweistichproben-t-Test ergab hier jedoch keinen signifikanten Unterschied bzgl. der maximalen Höhe des Hemmkörpertiters im Vergleich zwischen erfolgreichen und nicht erfolgreichen Patienten ( $p = 0,1590$ ).

Teilt man die Patienten dieser Subgruppe jedoch nach dem Kriterium ein, ob ihr höchster jemals gemessener Hemmkörper größer (42 Patienten) bzw. kleiner (20 Patienten) als 50 BE ist, so stellt sich heraus, dass die Patienten mit dem Hemmkörper-Spitzen-Titer größer als 50 BE eine signifikant schlechtere Erfolgsquote aufweisen ( $p = 0,0041$ ). In der Gruppe der Patienten mit einem Spitzen-Titer von  $< 50$  BE sind 18 Patienten erfolgreich und ein Patient nicht erfolgreich verlaufen (ein Patient ist ausgeschieden). Unter den Patienten mit einem Spitzen-Titer von  $> 50$  BE sind 19 Patienten erfolgreich und 15 nicht erfolgreich verlaufen (4 Patienten sind „ongoing“, 4 Patienten sind ausgeschieden) (siehe Abb. 10).

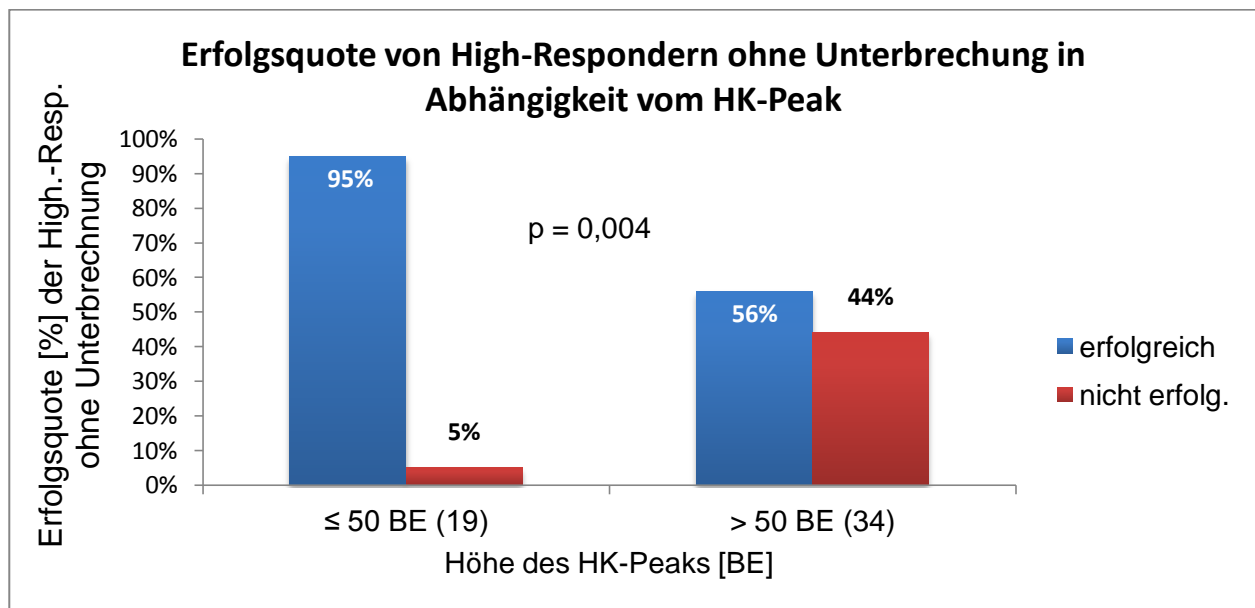


Abb. 10: Prozentuale Erfolgsquote bei den Bonner High-Respondern in Abhängigkeit von dem Hemmkörper-Spitzenpegel (HK-Peak)

#### 4.6.2 Einfluss des höchsten Hemmkörpertiters auf die Therapiedauer

Mit Hilfe der linearen Regressionsanalyse wurde in der Subgruppe der erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung ihres Therapieregimes der Zusammenhang zwischen der Therapiedauer und dem höchsten jemals gemessenen Hemmkörper-Titer (Hemmkörper-Peak) untersucht. Hierbei konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden ( $p = 0,8297$ ;  $R^2 = 0,0013$ ).

Auch in der Gruppe der erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls konnte zwischen den Patienten mit einem Hemmkörperspitzen Spiegel größer bzw. kleiner als 50 BE kein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer festgestellt werden ( $p = 0,3363$ ).

Innerhalb der Subgruppe der Low-Responder wurden die selben statistischen Untersuchungen durchgeführt. Obwohl die Patienten der Low-Responder-Gruppe per definitionem nie einen Hemmkörper-Titer größer als 5 BE aufweisen, werden hier 5 Patienten, mit einem Hemmkörper-Spitzen-Spiegel zwischen 5 und 9 BE mit eingeschlossen, da es sich bei diesen Werten um einmalige Ausreißer, bei sonst klassischem Hemmkörper-Verlauf von Low-Respondern handelt.

Innerhalb des Bereichs von 0 bis 9 BE besteht ein linearer Zusammenhang zwischen dem höchsten gemessenen Hemmkörper-Titer und der Therapiedauer ( $p = 0,001$ ;  $R^2 = 0,2317$ ). Der Zusammenhang besagt, dass höhere Hemmkörper-Spitzen-Spiegel (HK-Peak) mit einer längeren Therapiedauer einher gehen (siehe Abb. 11).

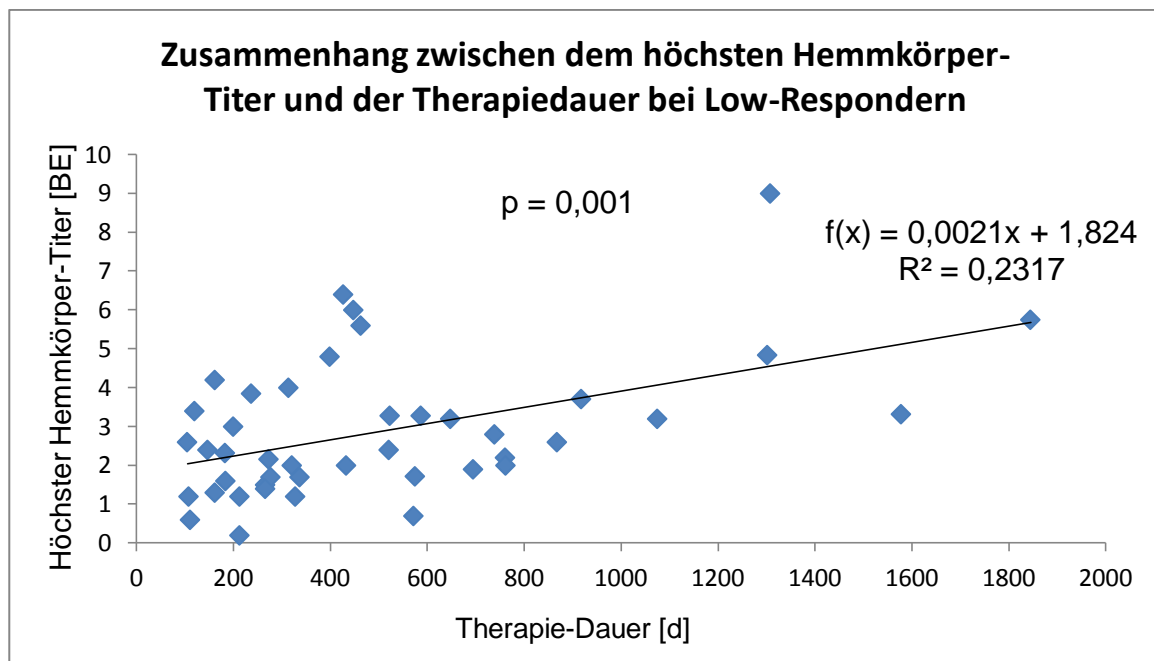


Abb. 11: Lineare Regression des Hemmkörperspitzenpiegels und der Therapiedauer von Low-Respondern

#### 4.6.3 Einfluss des Hemmkörpertiters zu Therapiebeginn auf den Therapieerfolg

Bei den 75 High-Respondern des Bonner Gesamtkollektives liegt der durchschnittliche Hemmkörper-Titer zu Therapiebeginn bei 87 BE, der Median beträgt 11,45 BE. Unter den Low-Respondern beträgt der Hemmkörper-Titer zu Therapiestart durchschnittlich 1,8 BE, der Median liegt bei 1,29 BE.

Zur Klärung der Frage, ob die Höhe des Hemmkörper-Titers zum Zeitpunkt des Therapiestartes (Start-Hemmkörper) einen Einfluss auf den Therapieerfolg hat, wurden diese Hemmkörper-Titer bei den erfolgreichen und nicht erfolgreichen Patienten in der Subgruppe der High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapie-regimes verglichen. Hierbei konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den 37 erfolgreichen (durchschnittlicher HK-Titer zu Therapiebeginn: 61 BE; Median: 11,2 BE) und 16 nicht erfolgreichen Patienten (durchschnittlicher HK-Titer zu Therapiebeginn: 126 BE; Median: 14,5 BE) festgestellt werden ( $p = 0,2090$ ). Auch der statistische Vergleich des Therapieerfolges zwischen jenen High-Respondern mit einem Start-Hemmkörper  $> 50$  BE (17 Patienten) bzw.  $< 50$  BE (49 Patienten) konnte keinen signifikanten Unterschied darstellen ( $p = 0,628$ ).

#### 4.6.4 Einfluss des Hemmkörpertiters zu Therapiebeginn auf die Therapiedauer

Zwischen dem Hemmkörpertiter zu Beginn der Therapie und der Therapiedauer konnte sowohl in der Subgruppe der 37 erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des Therapieprotokolls, als auch in der Subgruppe der 43 Low-Responder kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden (High-Responder:  $p = 0,661$ ,  $R^2 = 0,0056$ ; Low-Responder:  $p = 0,4322$ ,  $R^2 = 0,015$ ). Dies bedeutet, dass sich aus der Höhe des Hemmkörper-Titers unmittelbar zu Therapiebeginn in der Gruppe der High-Responder bzw. Low-Responder die Therapiedauer nicht vorhersagen lässt.

#### 4.6.5 Einfluss des Booster-Effekts auf den Therapieerfolg und Therapiedauer

Der sogenannte „Booster-Effekt“ beschreibt den initialen Anstieg des Hemmkörpers zu Beginn der Immuntoleranztherapie (vgl. Abb. 2). Nicht jeder Patient reagiert zu Beginn der Therapie mit einer Boosterung; ebenso ist die Höhe des Anstiegs des Hemmkörper-Titers interindividuell sehr unterschiedlich ausgeprägt. Im Folgenden wird daher die Frage erörtert, ob sich Patienten mit einer stark ausgeprägten Boosterung von Patienten ohne bzw. mit einer geringen Boosterung im Therapieerfolg und der Therapiedauer unterscheiden.

Mit Hilfe eines t-Tests wurde die Höhe der Boosterung von erfolgreichen und nicht erfolgreichen High-Respondern ohne Unterbrechung ihres hochdosierten Therapie-schemas verglichen. Hierbei liegt der durchschnittliche Boostereffekt unter den 37 erfolgreichen Patienten bei 354 BE. Die 16 nicht erfolgreichen Patienten zeigen einen durchschnittlichen Boostereffekt von 873 BE. Der t-Test konnte jedoch keinen signifikanten Unterschied bestätigen ( $p = 0,1864$ ).

Eine andere Betrachtungsweise kann dem Boostereffekt jedoch einen Einfluss auf den Therapieerfolg zusprechen: Unterteilt man in der oben genannten Subgruppe (High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas) die Patienten in eine Gruppe mit einem Boostereffekt größer als 50 BE (26 Patienten) und eine andere Gruppe, deren Boostereffekt kleiner als 50 BE ist (27 Patienten), so lässt sich mit Hilfe des Fisher-Exakt-Test ein signifikanter Unterschied in der Erfolgsquote errechnen ( $p = 0,00027$ ). Hierbei sind aus der Gruppe der Patienten mit einer Boosterung  $> 50$  BE 12 Patienten erfolgreich und 14 nicht erfolgreich verlaufen. In der Gruppe mit einer



Boosterung < 50 BE sind 25 Patienten erfolgreich und 2 Patienten nicht erfolgreich. Die Abbildung 12 zeigt die relative Erfolgs- bzw. Misserfolgsquote in diesen zwei genannten Gruppen.

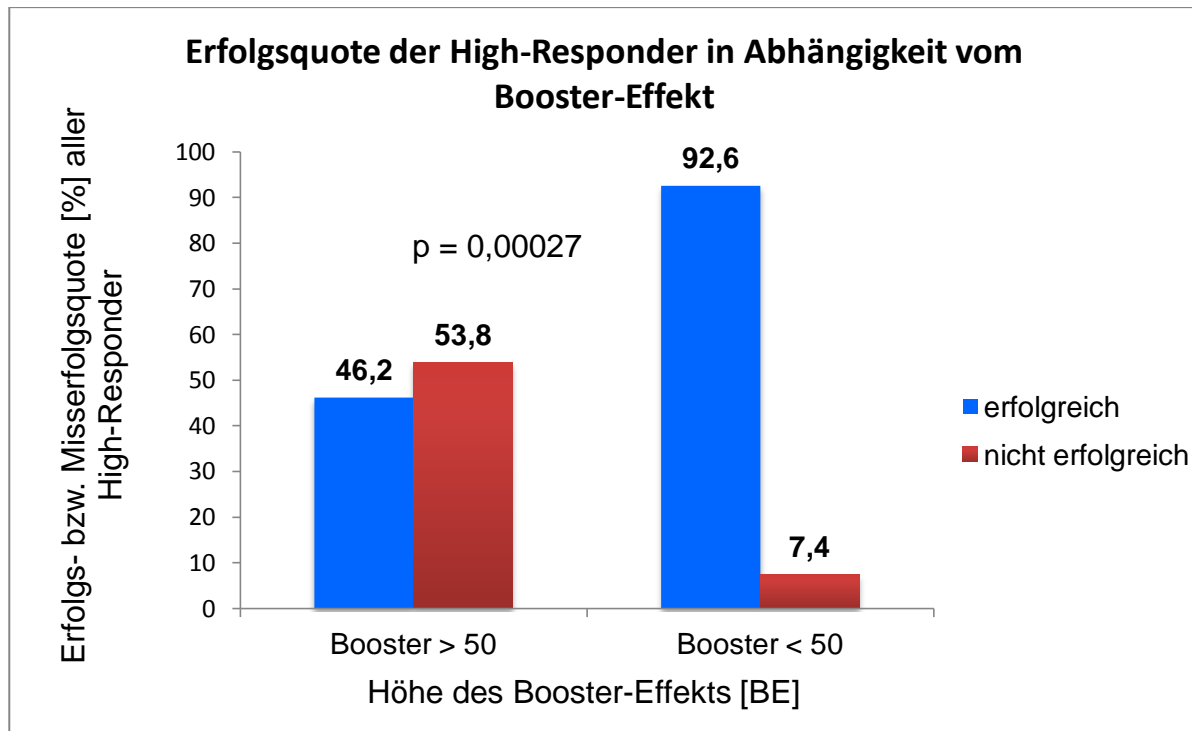


Abb. 12: Einfluss des Booster-Effekts auf den Therapieerfolg der High-Responder

Durch die Anwendung einer linearen Regression wurde untersucht, ob die Höhe des Booster-Effekts mit der Therapiedauer in einem Zusammenhang steht. Hier konnte jedoch in der Subgruppe der 37 erfolgreichen High-Responder ohne Therapieunterbrechung kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden ( $p = 0,7883$ ). Auch die zwei oben gebildeten Gruppen mit einer Booster-Höhe > 50 BE bzw. < 50 BE unterscheiden sich nicht signifikant in ihrer Therapiedauer ( $p = 0,3254$ ).

Da bei den 43 Low-Respondern auch der Hemmkörper-Spitzen-Spiegel mit der Therapiedauer korreliert, ist es nicht verwunderlich, dass auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Boostereffekt und der Therapiedauer in dieser Subgruppe besteht ( $p = 0,00042$ ;  $R^2 = 0,2646$ ). Umso höher der Booster-Effekt hier ausfällt, desto mehr Therapiezeit wird benötigt, bis die Immuntoleranztherapie als erfolgreich bezeichnet werden kann.

#### 4.7 Die für die Hämophilie A verantwortlichen Mutationen

Das Faktor VIII Protein wird auf dem X-Chromosom kodiert. Mutationen in diesem X-Chromosom sind für die angeborene Form der Hämophilie A verantwortlich. Hierbei können viele unterschiedliche Mutationen, wie z.B. große Deletionen, Intron 1 Inversionen, Intron 22 Inversionen, kleine Deletionen, kleine Insertionen, Nonsense-Mutationen (Stopp-Mutation), Missense-Mutationen und Mutationen an der Splice-Stelle zum klinischen Phänotyp der Hämophilie führen. Diese Mutationen lassen sich auch in Gruppen, entsprechend des Risikos der Entwicklung eines Faktor VIII Hemmkörpers, zusammenfassen. Dabei zählen die großen Deletionen und die Nonsense-Mutation zu den Mutationen, mit dem größten Risiko der Hemmkörperentwicklung (41 % bzw. 31 %). Die Intron 22 Mutationen zeigen ein mittleres Risiko (21 %) für die Hemmkörperentwicklung. Das geringste Risiko werden der kleinen Deletion (16 %), Missense-Mutation (5 %) und der Mutation an der Splice-Stelle (3 %) zugesprochen (Oldenburg et al., 2003).

Im Folgenden soll der Frage nachgegangen werden, ob diese unterschiedlichen Mutationstypen bzw. die entsprechenden Risikogruppen einen Einfluss auf den Therapieerfolg und die Therapiedauer der Immuntoleranztherapie ausüben.

Aus dem Gesamtkollektiv der 118 Hemmkörper-Patienten sind von 102 Patienten die Mutationen bekannt, bei 16 Patienten ist die Mutation unbekannt. Die häufigste Mutationsform in diesem Kollektiv ist mit 57 Patienten (55,9 %) die Intron 22 Inversion, gefolgt von der Stopp-Mutation bei 15 Patienten (14,7 %) und der Missense-Mutation mit 8 Patienten (7,8 %).

##### 4.7.1 Einfluss der Mutationsart auf den Erfolg der Immuntoleranztherapie

Die oben genannten Mutationen wurden, wenn es die Patientenzahlen zuließen, untereinander auf einen signifikanten Unterschied in der Erfolgsquote überprüft, jedoch konnte sich hier keine Mutationsform als prognostisch günstiger bzw. ungünstiger herauskristallisieren.

Auch nach der Zusammenfassung der Mutationen in die drei oben genannten Risikogruppen für die Hemmkörperentwicklung, konnte zwischen diesen drei Gruppen

im „3x2 Fisher's exact test“ kein signifikanter Unterschied des Therapieerfolges unter den High-Respondern mit hochdosiertem Therapieprotokoll festgestellt werden ( $p = 0,618$ ) (vgl. Abb. 13). Es wurde auch die Hochrisikogruppe mit der Mutationsgruppe mittleren Risikos zusammengefasst und mit der Mutationsgruppe geringen Risikos bzgl. der Erfolgsquote verglichen. Auch hier konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ( $p = 0,3092$ ). Somit wurde keine Mutation bzw. Mutationsgruppe gefunden, die für den Verlauf der Immuntoleranztherapie prognostisch günstiger bzw. schlechter ist.

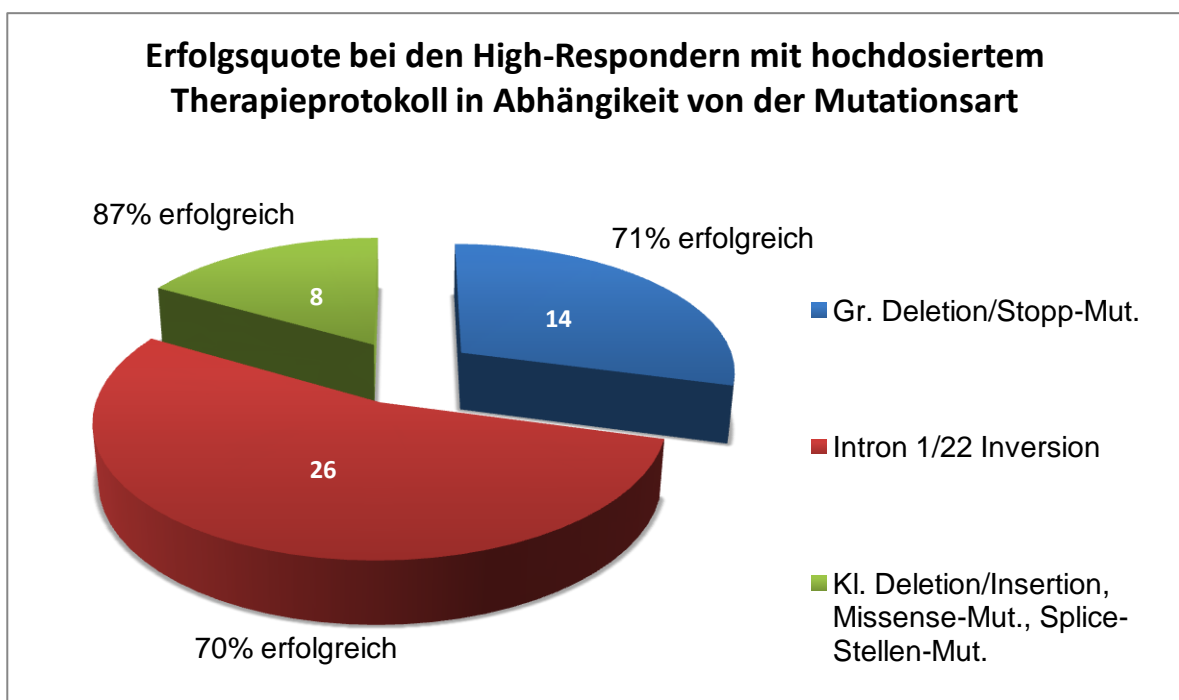


Abb. 13: Verteilung der Mutationsarten (absolute Anzahl in weißen Ziffern) unter den High-Respondern. Die Erfolgsquote ist neben der jeweiligen Gruppe angegeben.

#### 4.7.2 Einfluss der Mutationsart auf die Dauer der Immuntoleranztherapie

Bei den erfolgreichen High-Respondern ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls wurde für die statistische Auswertung des Einflusses der Mutationsart auf die Therapiedauer, die oben genannten Risikogruppen bzgl. ihrer Therapiedauer verglichen. Hierbei konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen diesen drei Gruppen festgestellt werden ( $p = 0,1956$ ).

Desweiteren wurden bei der selben Subgruppe an High-Respondern die Mutationen auch unter dem Gesichtspunkt eingeteilt, ob sie noch eine restliche endogene Faktor

VIII Bildung zulassen oder nicht. Hierzu wurden die Mutationsgruppen mit hohem und mittlerem Risiko zusammengefasst, da es bei beiden Risikogruppen zu keiner relevanten endogenen Faktor VIII Bildung kommt (13 Patienten). Bei den Mutationen mit einem geringen Hemmkörperrisiko (siehe oben) ist eine gewisse endogene Faktor VIII Produktion möglich (7 Patienten). Diese zwei Gruppen wurden bzgl. der Therapiedauer verglichen, wobei kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte ( $p = 0,6274$ ). Für diese Analyse wurden nur Patienten mit dem Therapiebeginn nach 1990 verwendet. Patienten vor 1990 weisen in unserem Kollektiv nur Mutationen auf, die zu keiner endogenen Faktor VIII Bildung mehr führen, sodass eine vergleichende Analyse hier nicht möglich ist.

In der Subgruppe der Low-Responder wurden nur jene Patienten mit Therapiebeginn nach 1990 betrachtet: Hier haben 10 Patienten eine Mutation, die eine restliche endogene Faktor VIII Produktion zulässt (durchschnittliche Therapiedauer 599 Tage), 11 Patienten weisen eine schwerere Mutation auf, bei der kein Faktor VIII mehr gebildet wird (durchschnittliche Therapiedauer 850 Tage). Zwischen diesen zwei Gruppen konnte auch hier kein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer festgestellt werden ( $p = 0,2222$ ). In der Subgruppe der Low-Responder hatten alle Patienten mit Therapiebeginn vor 1990 eine Mutation, bei der kein Faktor VIII mehr gebildet wird, sodass hier eine vergleichende Analyse nicht möglich ist.

Zusammenfassend konnte keine Mutation gefunden werden, die die Therapiedauer signifikant beeinflusst.

#### 4.8 Blutungen während der Immuntoleranztherapie

##### 4.8.1 Blutungsinzidenz bei High- und Low-Respondern

Bei den 75 High-Respondern haben während der gesamten Dauer der Immuntoleranztherapie durchschnittlich 2,16 schwere Blutungen stattgefunden. Bezogen auf die ITT Dauer errechnen sich hieraus 0,914 schwere Blutungen pro Therapiejahr.

Bei den 43 Low-Responder Patienten liegt der Mittelwert für die Anzahl an schweren Blutungen während der gesamten ITT bei 1,259. Dies entspricht durchschnittlich 1,189 Blutungen pro Jahr.

In einem Zweistichproben-t-Test konnte kein signifikanter Unterschied in der Blutungsinzidenz pro Jahr zwischen High- und Low-Respondern festgestellt werden ( $p = 0,3618$ ). Somit kann man davon ausgehen, dass schwere Blutungen während der ITT generell nicht häufiger bei High-Respondern als bei Low-Respondern auftreten.

#### 4.8.2 Blutungen in unterschiedlichen Therapiephasen

Ordnet man den Zeitpunkt des Auftretens einer schweren Blutung der Therapiephase t2 (von Beginn der ITT bis zur ersten Dosisreduktion – das ist die Therapiephase mit der Präsenz eines klinisch relevanten FVIII-Hemmkörpers) oder t3 (Therapiephase ab der ersten Dosisreduktion bis zum Ende der ITT) zu, so stellt man fest, dass 75 % der Blutungen (83 Blutungen) in t2 und 25 % (28 Blutungen) in t3 stattgefunden haben. Diese ungleiche Verteilung der Blutungen zu diesen zwei Zeitabschnitten der ITT lässt sich nicht durch eine unterschiedliche Dauer von t2 im Vergleich zu t3 erklären, da t2 mit 54 % und t3 mit 46 % der Gesamt-ITT-Dauer fast gleich groß sind.

Patienten, die keine schwere Blutung und keine Dosisreduktion hatten, wurden bei dieser Analyse nicht betrachtet.

#### 4.8.3 Einfluss der Blutungen auf den Therapieerfolg

In der Subgruppe der High-Responder mit einem konstanten hochdosierten Therapieprotokoll wurden die Patienten in vier Gruppen unterteilt (Gruppe Null: 0 Blutungen, Gruppe eins: 1 Blutung, Gruppe zwei: 2 Blutungen, Gruppe drei:  $\geq 3$  Blutungen) und untersucht, in wieweit sich diese Gruppen in der Erfolgsquote statistisch unterscheiden.

In der „Gruppe null“ mit 0 Blutungen sind 20 Patienten erfolgreich, 2 Patienten nicht erfolgreich verlaufen. Die „Gruppe eins“, die durch eine Blutung während der ITT definiert wird, beinhaltet 13 Patienten von denen 9 erfolgreich und 4 nicht erfolgreich sind. In „Gruppe zwei und drei“ befinden sich jeweils 9 Patienten. Hier hat sich das Verhältnis der Anzahl erfolgreicher zu nicht erfolgreichen Patienten umgedreht, sodass hier jeweils 5 Patienten nicht erfolgreich und 4 Patienten erfolgreich verlaufen sind (siehe Abb. 14).

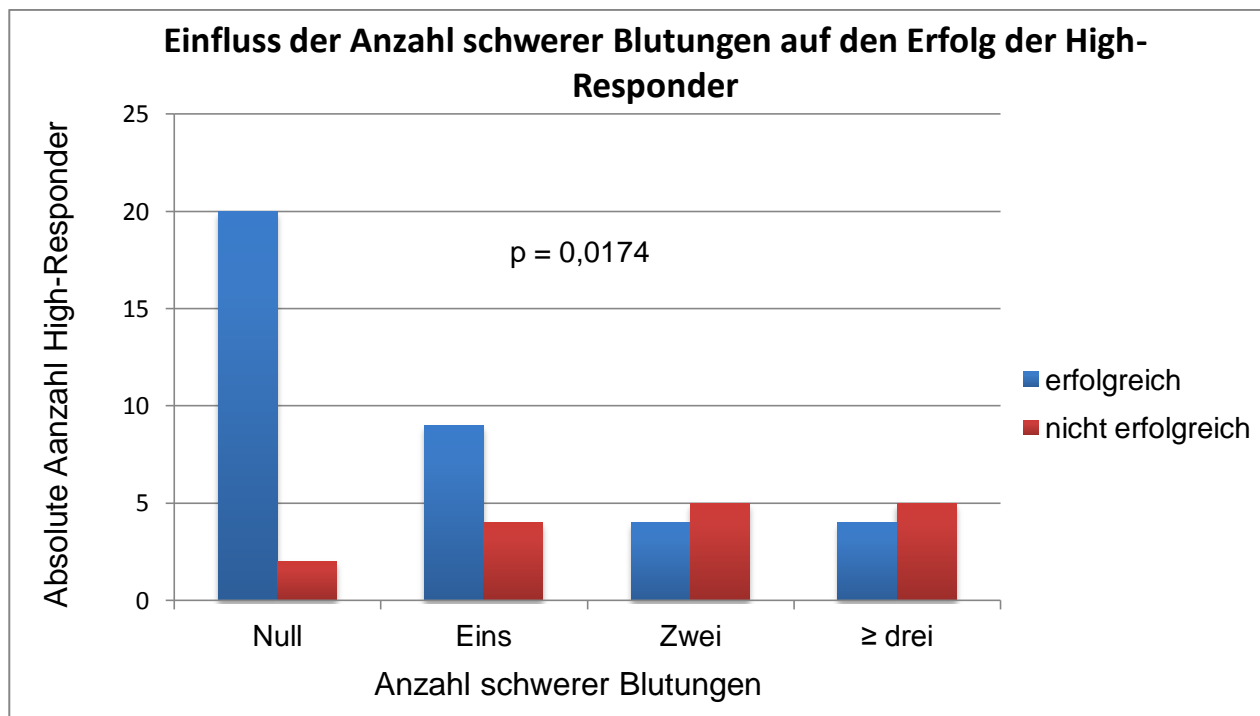


Abb. 14: Darstellung der Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreicher High-Responder in Abhängigkeit von der Anzahl schwerer Blutungen während der Immuntoleranztherapie

Zwischen diesen vier Gruppen ist die Anzahl erfolgreicher bzw. nicht erfolgreicher Patienten signifikant ungleich verteilt, sodass sich ein p-Wert von 0,0174 ergibt.

Dieser signifikante Unterschied kommt besonders durch die hohe Erfolgsquote bei den Patienten ohne eine schwere Blutung während der ITT zu Stande („Gruppe null“). Fasst man die Gruppe eins, zwei und drei zusammen und vergleicht diese mit den Patienten, die keine Blutung während ihrer ITT hatten, so lässt sich im Fisher-Exakt-Test ein p-Wert von 0,00612 ermitteln (siehe Abb. 15).

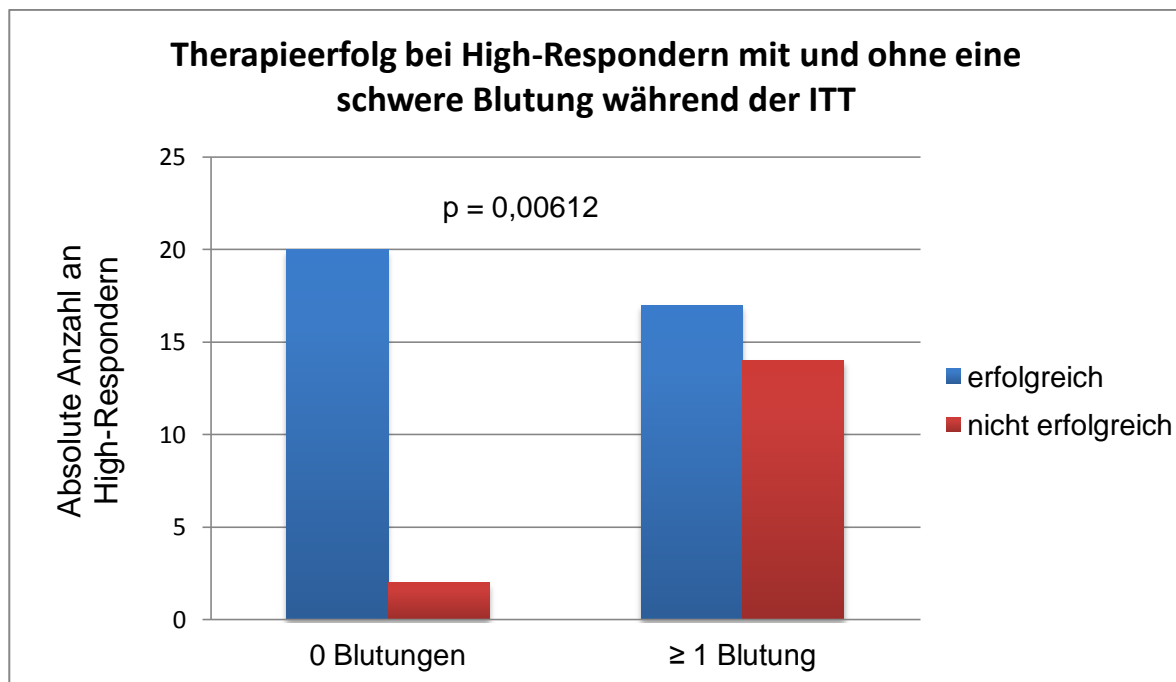


Abb. 15: Darstellung der Erfolgsquote der High-Responder, bei denen keine bzw. eine oder mehr schwere Blutung während der ITT auftraten

Zwischen den Gruppen eins, zwei und drei konnte kein signifikanter Unterschied in der Erfolgsverteilung festgestellt werden ( $p = 0,3921$ ).

Da High-Responder mit einer nicht erfolgreich verlaufenden Immuntoleranztherapie eine signifikant längere Therapiedauer aufweisen ( $p = 0,0016$ ), ist hier auch die Zeitspanne länger, in der schwere Blutungen auftreten könnten. Um diesen Einfluss der Therapiedauer auf die Möglichkeit des Auftretens schwerer Blutungen auszuschließen, wurde ein Quotient gebildet, der die Anzahl schwerer Blutungen pro Therapiejahr beschreibt. Die Patienten aus der Subgruppe der 62 High-Responder ohne Unterbrechung der hochdosierten Therapie wurden dann, entsprechend ihres Quotienten, in drei Gruppen eingeteilt: Die erste Gruppe hatte 0 Blutungen pro Jahr, die zweite Gruppe weniger als 1 Blutung pro zwei Jahren ( $< 0,5$  Blutungen/Jahr) und die dritte Gruppe mehr als eine Blutung pro zwei Jahren ( $\geq 0,5$  Blutungen/Jahr) (siehe Tab. 3).

|                          | Anzahl Erfolgreicher<br>High-Responder | Anzahl Nicht erfolgreiche<br>High-Responder |
|--------------------------|--|---|
| 0 Blutungen pro Jahr     | 20                                     | 2   |
| < 0.5 Blutungen pro Jahr | 6                                      | 4   |
| > 0.5 Blutungen pro Jahr | 11                                     | 11  |

Tab. 3: Anzahl erfolgreicher bzw. nicht erfolgreicher High-Responder in Abhängigkeit von der Anzahl Blutungen pro Jahr.

Unter Anwendung des 3x2 Felder Fisher's exact test konnte ein signifikanter Unterschied in diesen drei Gruppen bzgl. des Therapieerfolgs festgestellt werden ( $p = 0,0068$ ). Auch hier entsteht dieser signifikante Unterschied durch die unterschiedliche Erfolgsquote zwischen den Patienten mit mindestens einer Blutung (Gruppe 2 + Gruppe 3) und der Gruppe mit keiner Blutung (Gruppe 1).

Zusammenfassend lässt sich daraus schließen, dass eine schwere Blutung während der Immuntoleranztherapie einen negativen Einfluss auf den Therapieerfolg hat, wohingegen die Anzahl der Blutungen einen geringeren Einfluss auf den Erfolg ausübt.

#### 4.8.4 Einfluss der Blutungen auf die Therapiedauer

Zur Klärung der Frage, ob die Anzahl an schweren Blutungen während der Immuntoleranztherapie einen Einfluss auf die Therapiedauer ausübt, wurden alle erfolgreichen High-Responder ohne eine Unterbrechung des Therapieprotokolls in drei Gruppen unterteilt: Die „Gruppe null“ hatte keine Blutung während der ITT (20 Patienten), die „Gruppe eins“ hatte eine Blutung (9 Patienten) und die „Gruppe zwei“ hatte  $\geq 2$  Blutungen (8 Patienten). Unter Anwendung einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) konnte hier kein signifikanter Unterschied der Therapiedauer in diesen drei Gruppen festgestellt werden ( $p = 0,3799$ ).

Die Selbe Einteilung und statistische Berechnung wurde für die Subgruppe der Low-Responder durchgeführt (43 Patienten). Zwischen der Gruppe null (20 Patienten), Gruppe eins (15 Patienten) und Gruppe zwei (8 Patienten) konnte auch hier kein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer festgestellt werden ( $p = 0,945$ ).



#### 4.9 Das intravasale Kathetersystem

In der folgenden Ausführung werden nur Kathetersysteme auch als solche bezeichnet, die für eine längere Anwendung geeignet sind (insb. das Portsystem, seltener der Sheldon- oder Broviac-Katheter). Die Anwendung eines intravasalen Kathetersystems stellt die ultima ratio dar, wenn auf anderem Wege die meistens zweimal tägliche Applikation des Faktor VIII nicht mehr gewährleistet werden kann. Aus dem Gesamtkollektiv von 118 Patienten haben 30 Patienten ein intravasales Kathetersystem (25,4 %). In der Subgruppe der 75 High-Responder haben 25 Patienten (33,3 %) und unter den 43 Low-Respondern haben 5 Patienten (11,6%) ein intravasales Kathetersystem. Somit sind 83,3 % der Patienten, die ein intravasales Kathetersystem haben, High-Responder. Die Hauptgefahr dieser intravasalen Kathetersysteme liegt in deren Infektion mit bakteriellen Erregern. Von den 30 Patienten mit einem intravasalen Kathetersystem, kam es im Laufe der Immuntoleranztherapie bei 13 Patienten (43,3 %) zu mindestens einer Infektion dieses Gefäßzuganges (die Spanne beträgt ein bis drei Infektionen).

##### 4.9.1 Einfluss eines intravasalen Kathetersystems auf den Therapieerfolg

Für die Analyse des Einflusses eines intravasalen Kathetersystems auf den Erfolg der ITT werden in dieser Arbeit bzgl. des Kathetersystems drei Zustände unterschieden: Patienten ohne ein Kathetersystem, Patienten die ein oder mehrere intravasale Kathetersysteme während ihrer ITT verwendet haben und Patienten die ein Kathetersystem mit einer Infektion hatten. In der Subgruppe der 62 High-Responder ohne eine Unterbrechung hatten 17 Patienten mindestens ein intravasales Kathetersystem und 36 kein intravasales Kathetersystem (5 Patienten sind ausgeschieden, 4 „ongoing“). Unter den Patienten mit einem Kathetersystem sind 10 Patienten erfolgreich und 7 Patienten nicht erfolgreich verlaufen. Von den 36 Patienten, die kein Kathetersystem während ihrer ITT hatten waren 27 erfolgreich und 9 Patienten nicht erfolgreich.

Unter Anwendung eines Chi<sup>2</sup>-Tests konnte kein signifikanter Unterschied in der Erfolgsquote von Patienten mit einem intravasalen Kathetersystem und Patienten, die kein intravasales Kathetersystem während ihrer Immuntoleranztherapie erhalten haben, festgestellt werden ( $p = 0,2311$ ).

Auch der Vergleich der Patienten mit einem infizierten intravasalen Kathetersystem gegen die Patienten, deren Kathetersystem sich nicht infiziert hat ( $p = 0,6371$ ), oder gegen die Patienten die kein intravasales Kathetersystem während ihrer ITT hatten, konnte keinen signifikanten Unterschied in der Erfolgsquote herausstellen ( $p = 0,2088$ ). Jedoch sind für diese zwei Fragestellungen die Patientenzahlen jeweils sehr gering (siehe hierzu Tab. 4 und Tab. 5).

|                                  | Erfolgreiche High-Resp. | Nicht erfolgreiche High-Resp. |
|----------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Infiziertes Kathetersystem       | 4                       | 4                             |
| Nicht infiziertes Kathetersystem | 6                       | 3                             |

Tab.4: Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreicher High-Responder mit einem infizierten bzw. nicht infizierten intravasalen Kathetersystem während der ITT

|                            | Erfolgreiche High-Resp. | Nicht erfolgreiche High-Resp. |
|----------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Infiziertes Kathetersystem | 4                       | 4                             |
| Kein Kathetersystem        | 27                      | 9                             |

Tab.5: Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreicher High-Responder mit einem infizierten intravasalen Kathetersystem bzw. keinem intravasalen Kathetersystem während der ITT

#### 4.9.2 Einfluss eines intravasalen Kathetersystems auf die Therapiedauer

Während das intravasale Kathetersystem keinen signifikanten Einfluss auf den Therapieerfolg zeigen konnte, so gibt es jedoch Hinweise, dass hierdurch die Therapiedauer ungünstig beeinflusst wird: In der Subgruppe der erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas, wurde die

durchschnittliche Therapiedauer der Patienten mit einem intravasalen Kathetersystem (10 Patienten) mit der Therapiedauer von jenen Patienten ohne ein Kathetersystem (27 Patienten) verglichen. Hierbei konnte ein signifikanter Unterschied festgestellt werden ( $p = 0,030$ ), wobei der Durchschnitt der Therapiedauer bei den Patienten mit einem Kathetersystem 1116 Tage und bei Patienten ohne Kathetersystem 666 Tage beträgt (siehe Abb. 16).

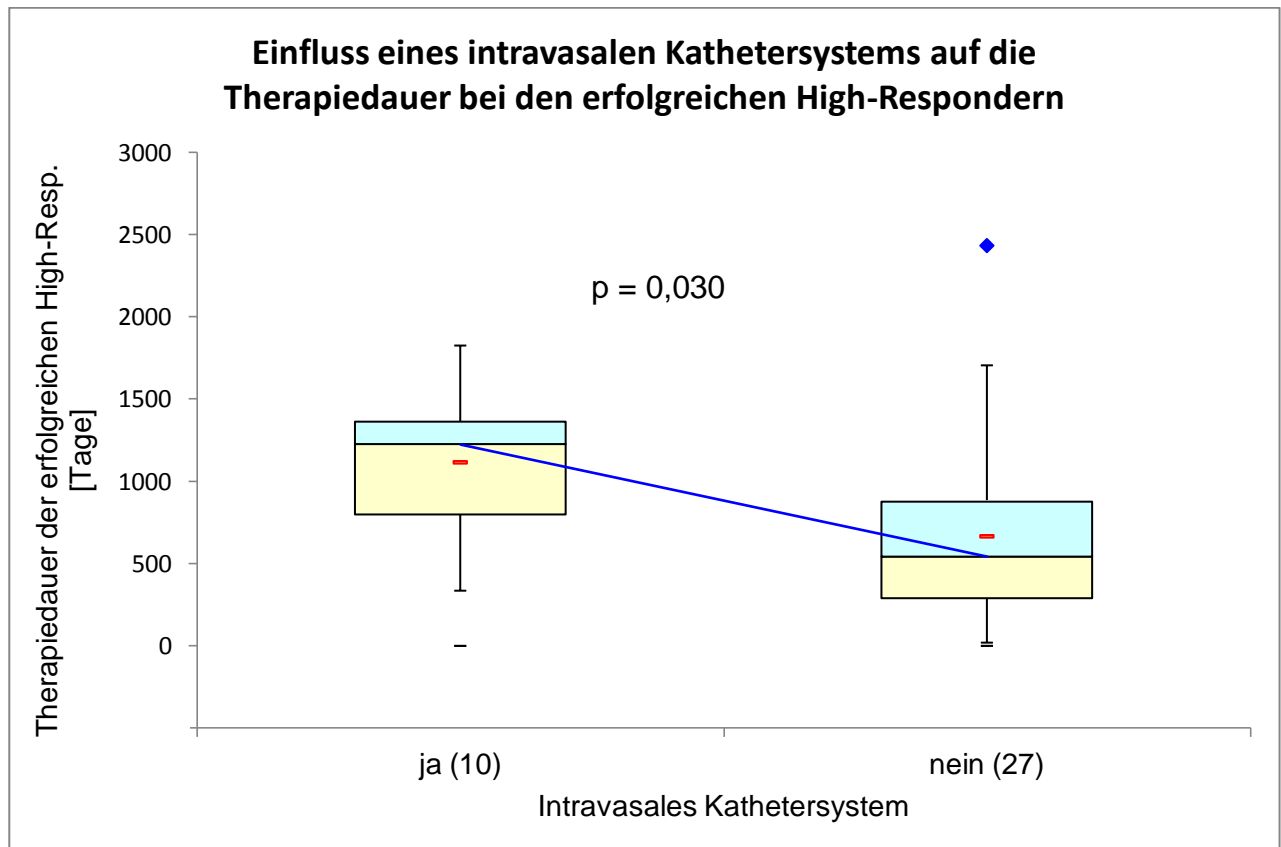


Abb. 16: Box-Whisker-Plot der Therapiedauer von High-Respondern in Abhängigkeit von der Verwendung eines intravasalen Kathetersystems

Bei der Gegenüberstellung der Therapiedauer von Patienten mit einem infizierten Kathetersystem und Patienten ohne Kathetersystem bzw. gegenüber Patienten mit einem Kathetersystem ohne eine Infektion ergibt sich hierbei wieder das Problem, wie bei der Beurteilung des Erfolges, dass die Patientenzahlen sehr gering sind. Jedoch lässt sich unter den erfolgreichen High-Respondern ohne eine Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls in den drei oben genannten Gruppen eine Tendenz erkennen: Patienten ohne ein Kathetersystem (27 Patienten) weisen die kürzeste Therapiedauer auf (durchschnittlich 666 Tage). Patienten, die ein Kathetersystem

besitzen, dass sich im Laufe der Therapie nicht infiziert hat (6 Patienten), benötigen durchschnittlich 830 Tage bis zum erfolgreichen Abschluss der Therapie. Unter den Patienten mit einem infiziertem Kathetersystem (4 Patienten) scheint die Therapie am längsten zu dauern, hier werden durchschnittlich 1546 Tage bis zum Therapieerfolg benötigt (siehe Abb. 17).

Unter Anwendung einer einfaktoriellen Varianzanalyse, konnte ein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer dieser drei Gruppen festgestellt werden ( $p = 0,011$ ).

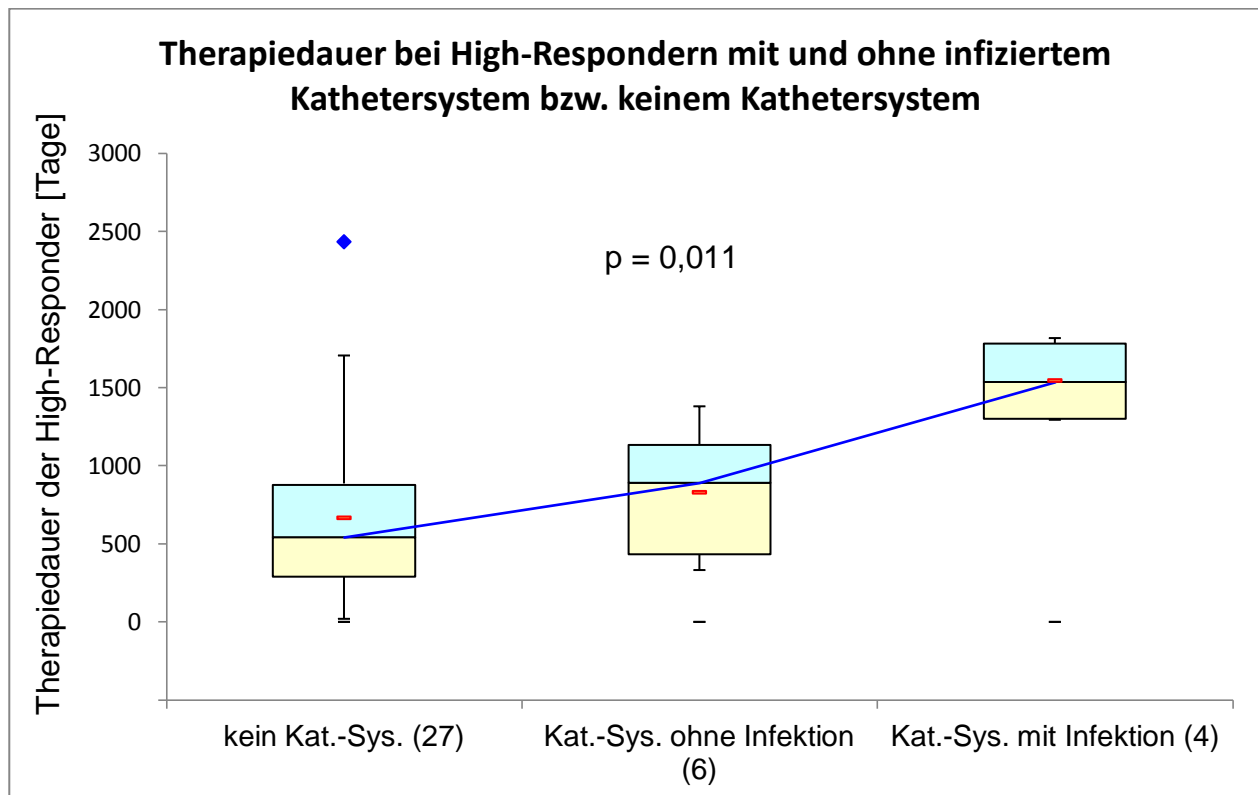


Abb. 17: Box-Whisker-Plot der Therapiedauer der High-Responder mit einem infiziertem bzw. nicht infiziertem intravasales Kathetersystem und Patienten ohne ein intravasales Kathetersystem

#### 4.10 Anzahl Krankenhausaufenthalte

Unter den 114 Patienten mit einer abgeschlossenen Immuntoleranztherapie (alle Patienten außer der „ongoing“ Gruppe) kam es durchschnittlich während der ITT zu 1,56 stationären Aufenthalten auf Grund von Komplikationen während der ITT (vgl. Abschnitt 3.4.10). Dies entspricht durchschnittlich 0,896 stationären Aufenthalten

pro Behandlungsjahr. In der Subgruppe der 71 High-Responder kommt es während der ITT durchschnittlich zu 1,99 stationären Aufenthalten. Das entspricht 0,93 stationären Aufenthalten pro Therapiejahr.

Bei den 43 Low-Respondern kam es während der Dauer der gesamten ITT zu durchschnittlich 0,86 stationären Aufnahmen. Das entspricht 0,844 stationären Aufenthalten pro Therapiejahr.

#### 4.10.1 Einfluss der Anzahl an Krankenhausaufenthalten auf den Therapieerfolg

Die Patienten der Subgruppe der High-Responder ohne eine Unterbrechung im hochdosierten Therapieschema wurden in 3 Gruppen eingeteilt: Die „Gruppe 0“ hatte keinen stationären Aufenthalt während der ITT, die „Gruppe eins“ hatte einen Krankenhausaufenthalt und die „Gruppe zwei“ hatte  $\geq 2$  stationäre Aufenthalte. In der „Gruppe 0“ waren 13 Patienten erfolgreich und 4 nicht erfolgreich. In der „Gruppe eins“ gab es 10 erfolgreiche Patienten und 2 nicht erfolgreiche Patienten. Die Gruppe „zwei“ beinhaltet 14 erfolgreiche und 10 nicht erfolgreiche Patienten. Zwischen diesen drei Gruppen konnte in den statistischen Tests kein signifikanter Unterschied in der Erfolgsquote festgestellt werden ( $p = 0,2913$ ).

Umso länger die Immuntoleranztherapie andauert, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine Komplikation auftreten kann und ein stationärer Aufenthalt notwendig ist. Da in der Subgruppe der High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas die nicht erfolgreichen Patienten eine signifikant längere Therapiedauer aufweisen ( $p = 0,0016$ ), wurde die Anzahl der stationären Aufenthalte während der Immuntoleranztherapie auf ein Behandlungsjahr bezogen. Dieser sich hieraus ergebende Quotient (Anzahl stationärer Aufenthalte pro Jahr) zeigte jedoch auch keinen signifikanten Unterschied in der Erfolgsquote zwischen den erfolgreichen und nicht erfolgreichen High-Respondern ohne Unterbrechung des Therapieschemas ( $p = 0,3688$ ).

Somit stellt die Anzahl der stationären Aufnahmen im Laufe einer Immuntoleranztherapie keinen negativen Prädiktor für den Erfolg der ITT dar.

#### 4.10.2 Einfluss der Anzahl an Krankenhausaufenthalten auf die Therapiedauer

Die Anzahl der Krankenhausaufenthalte während der Immuntoleranztherapie konnte keinen signifikanten Einfluss auf den Therapieerfolg zeigen, jedoch scheint dieser Parameter die Therapiedauer zu beeinflussen. Um diesen Zusammenhang darzustellen, wurden in der Subgruppe der erfolgreichen High-Responder ohne eine Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas vier Gruppen gebildet: „Gruppe 0“ war während der gesamten ITT-Dauer nicht in stationärer Behandlung (13 Patienten), „Gruppe 1“ hatte einen stationären Aufenthalt (10 Patienten), „Gruppe 2“ hatte 2 stationäre Aufenthalte (6 Patienten) und „Gruppe 3“ hatte drei oder mehr stationäre Aufenthalte (8 Patienten). Innerhalb dieser vier Gruppen unterscheidet sich der Mittelwert der Therapiedauer signifikant ( $p = 0,0015$ ). Hierbei lässt sich folgender Zusammenhang formulieren: Umso häufiger die Patienten stationär behandelt werden mussten, desto länger ist der Therapieverlauf. In Zahlenwerten ausgedrückt liegt der Median der Therapiedauer für die „Gruppe 0“ bei 424 Tage, für „Gruppe 1“ bei 583 Tage, bei „Gruppe 2“ bei 719 Tage und für die „Gruppe 3“ bei 1299 Tage (siehe Abb. 18).

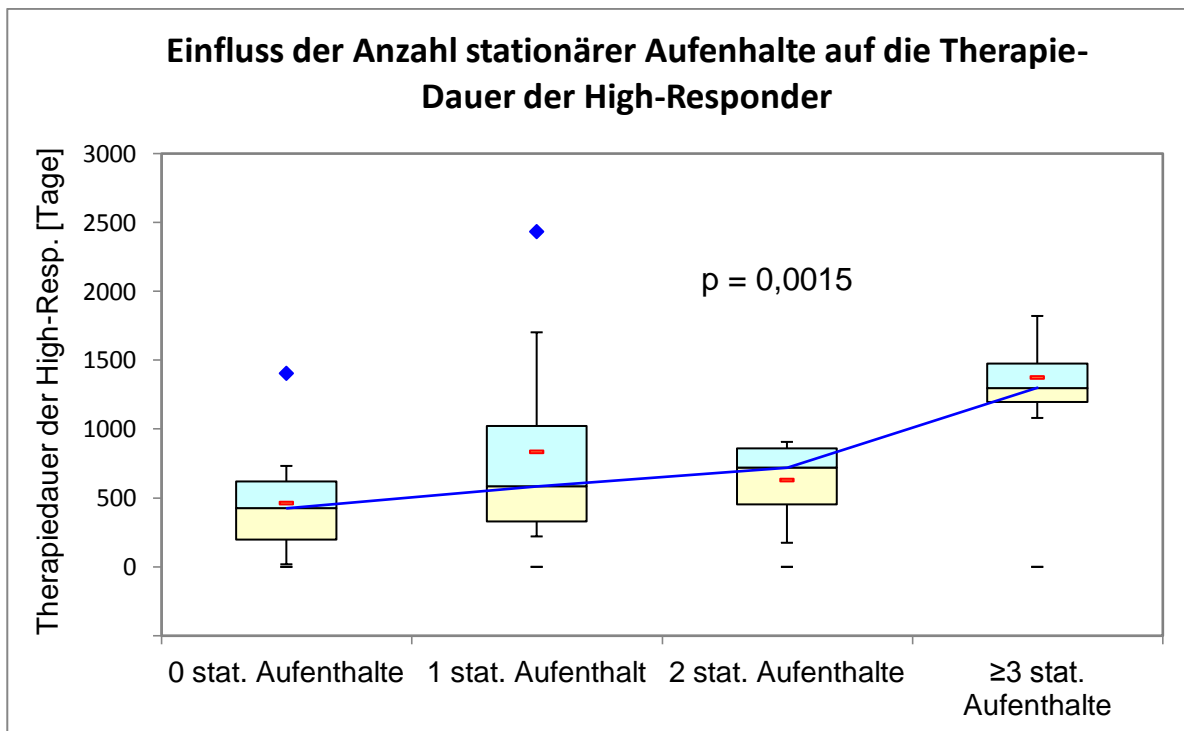


Abb. 18: Box-Whisker-Plot der Therapiedauer der High-Responder in Abhängigkeit von der Anzahl der stationären Aufenthalte während der Immuntoleranztherapie

In der Subgruppe der 43 Low-Responder wurden analog zu der Gruppe der High-Responder vier Gruppen gebildet (Gruppe null = kein stationärer Aufenthalt, Gruppe eins = 1 stationärer Aufenthalt, Gruppe zwei = 2 stationäre Aufenthalte, Gruppe drei  $\geq$  3 stationäre Aufenthalte). In diesen vier Gruppen konnte jedoch kein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer festgestellt werden ( $p = 0,3421$ ).

Somit stellt die Anzahl der Krankenhausaufenthalte, als indirekter Parameter für Komplikationen während der Immuntoleranztherapie, ein negativer Prädiktor für die Therapiedauer von High-Respondern, jedoch nicht für die Low-Responder dar.

#### 4.11 Der Einsatz von Bypassing-Produkten während der Immuntoleranztherapie

In dieser Arbeit wurden die Patienten auch dahingehend untersucht, ob es während der Gesamtzeit der Immuntoleranztherapie nötig war, vom Einsatz von Bypassing-Produkten wie FEIBA oder NovoSeven (No7a) Gebrauch zu machen. Diese Verwendung von Bypassing-Produkten stellt einen indirekten Parameter für das Auftreten von Komplikationen (z.B. Blutungen, Operationen oder mangelnde Wirksamkeit des Faktor VIII Präparates) während der Immuntoleranztherapie dar.

##### 4.11.1 Der Zusammenhang zwischen Bypassing-Produkten und dem Therapieerfolg

Innerhalb der Subgruppe der 62 High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas haben 35 Patienten FEIBA bekommen, 18 Patienten haben kein FEIBA benötigt (5 Patienten sind ausgeschieden, 4 ongoing). Unter den 35 Patienten, die während ihrer ITT FEIBA als Bypassing-Produkt verwendet haben, sind 21 Patienten erfolgreich und 14 nicht erfolgreich verlaufen. Unter den 18 Patienten, die FEIBA während ihrer ITT nicht benötigt haben, sind 16 Patienten erfolgreich und 2 nicht erfolgreich verlaufen. Unter Anwendung des exakten Fisher-Test, konnte zwischen diesen zwei Gruppen ein grenzwertiger Signifikanzwert von  $p = 0,056$  ermittelt werden. In der gleichen Subgruppe wurde die selbe Analyse für das zweite Bypassing-Produkt, das NovoSeven (No7a), durchgeführt. Hier konnte ein deutlicher Unterschied in der Erfolgsquote zwischen den Patienten mit No7a während ihrer ITT und Patienten, die kein No7a während ihrer ITT erhalten haben, festgestellt werden ( $p = 0,0065$ ). Die Verteilung der Patientenzahlen kann in unten stehender Graphik abgelesen werden (siehe Abb. 19).

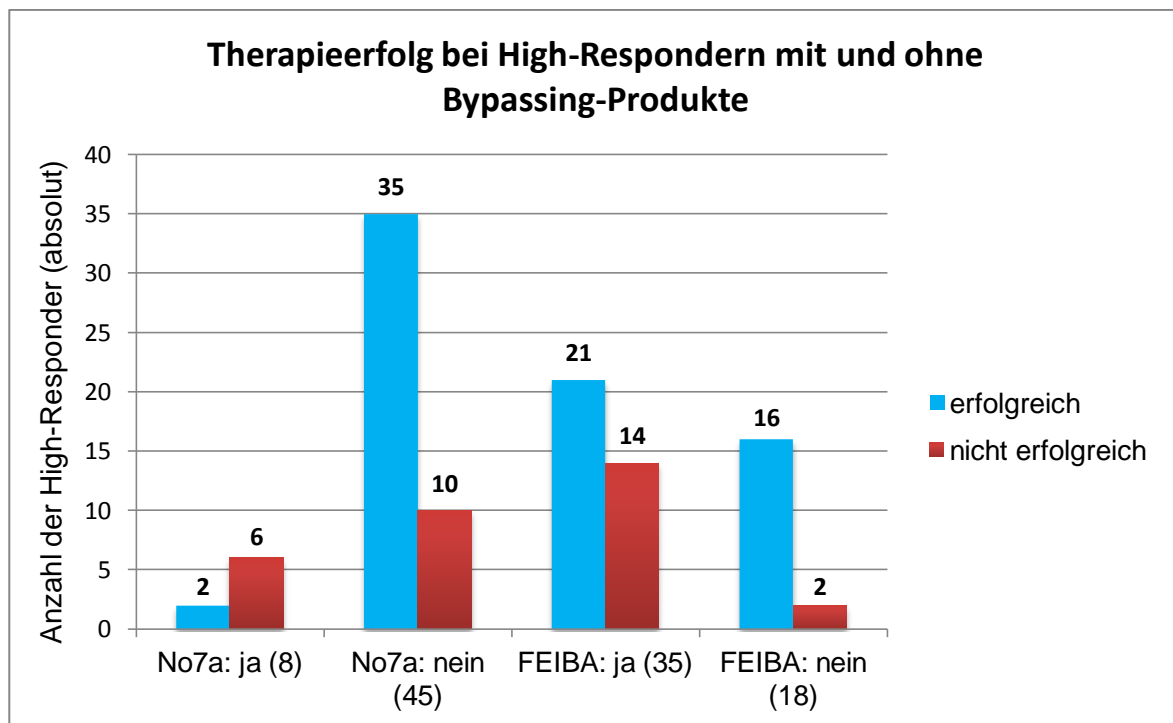


Abb. 19: Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreicher High-Responder in den Patientengruppen, die NovoSeven (No7a) bzw. FEIBA während der ITT verwendet haben

Die Abbildung 20 zeigt die relative Erfolgsquote in Abhängigkeit der Verwendung der Bypassing-Produkte während der Immuntoleranztherapie.

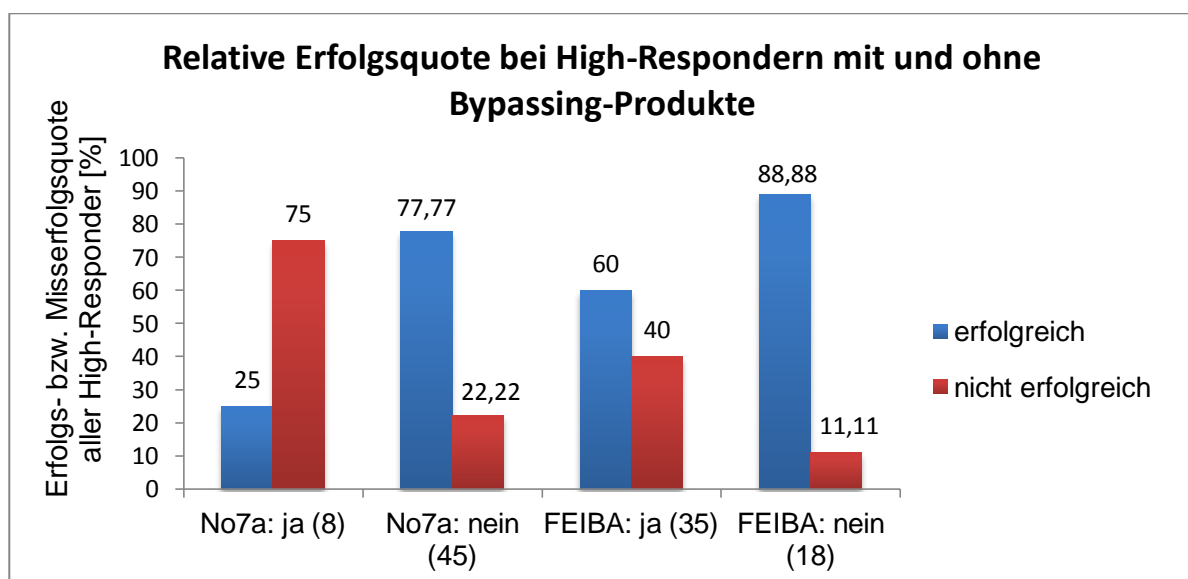


Abb. 20: Therapie-Outcome (Erfolgs- bzw. Misserfolgsquote in %) bei den High-Respondern die FEIBA bzw. No7a während der ITT benötigt haben, im Vergleich zu den High-Respondern die ohne Bypassing-Produkte auskamen



#### 4.11.2 Der Zusammenhang zwischen Bypassing-Produkten und der Therapiedauer

Unter den 37 erfolgreichen High-Respondern ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas, hatten 21 Patienten während ihrer Immuntoleranztherapie FEIBA als Bypassing-Produkt erhalten. Die durchschnittliche Therapiedauer dieser Patienten (Mittelwert: 981 Tage; Median: 904 Tage) unterscheidet sich signifikant von der durchschnittlichen Therapiedauer von den 16 Patienten dieser Subgruppe, die kein FEIBA während ihrer ITT benötigt haben (Mittelwert: 535 Tage; Median: 382 Tage). Die Irrtumswahrscheinlichkeit ( $\alpha$ -Fehler, Fehler erster Art) dieser Aussage liegt unter 2 % ( $p = 0,0158$ ) (siehe Abb. 21).

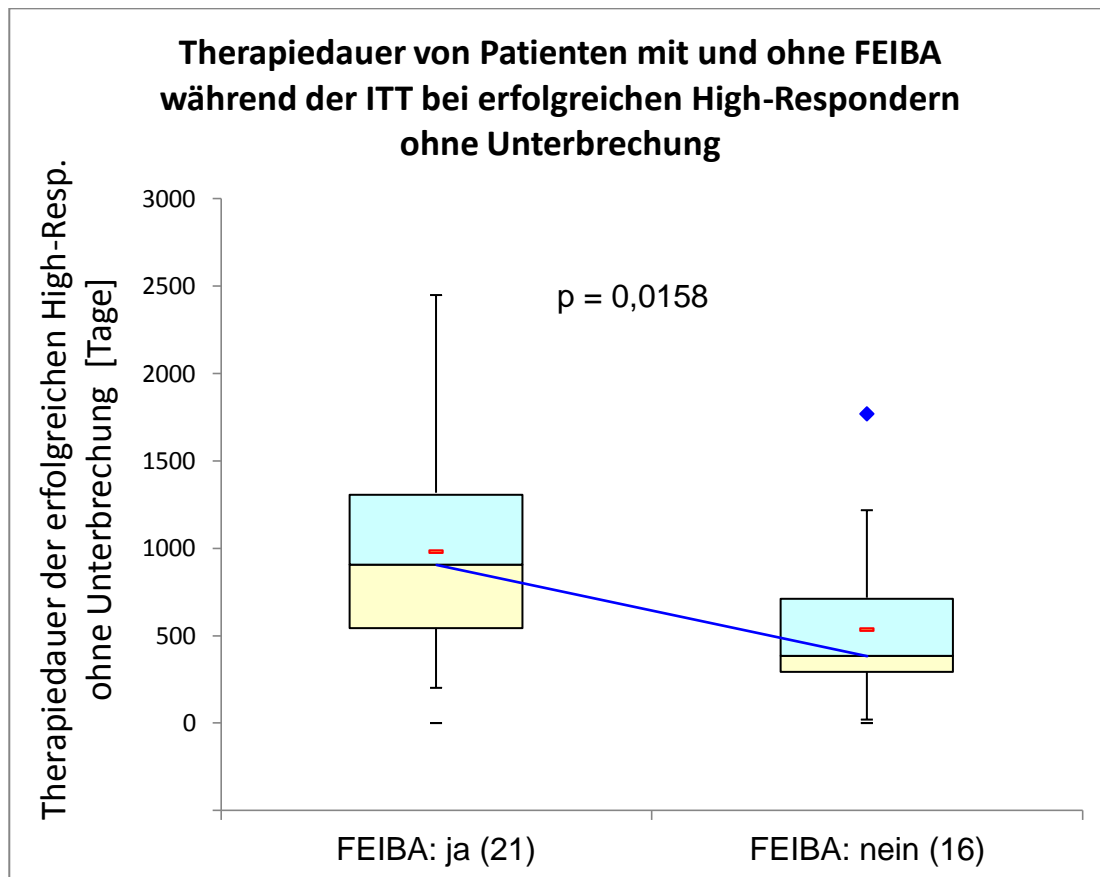


Abb. 21: Box-Whisker-Plot der Therapiedauer von erfolgreichen High-Respondern, die FEIBA bzw. kein FEIBA während ihrer Immuntoleranztherapie verwendet haben

Der statistische Vergleich der Therapiedauer bei Patienten, die das zweite Bypassing-Produkt NovoSeven während ihrer ITT erhalten haben und Patienten, bei denen der Einsatz von No7a nicht notwendig war, konnte auf Grund zu geringer Patientenzahlen

nicht durchgeführt werden (nur 2 erfolgreiche High-Responder ohne Unterbrechung und 1 erfolgreicher Low-Responder, die No7a erhalten haben).

In der Subgruppe der 43 Low-Responder konnte kein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer in Abhängigkeit von der Verwendung von FEIBA erkannt werden ( $p = 0,8139$ ). Hierbei haben die 8 Patienten, die während ihrer Immuntoleranztherapie FEIBA verwendet haben, eine durchschnittliche Therapiedauer von 542 Tagen. Patienten, die in ihrer ITT ohne das FEIBA auskamen, haben eine durchschnittliche Therapiedauer von 504 Tagen.

#### 4.11.3 Der Einsatz der Bypassing-Produkte in Abhängigkeit vom Hemmkörperspiegel

Zuerst wurde das Bonner Gesamtkollektiv dahingehend untersucht, ob die High- oder Low-Responder sich in der Verwendung des Bypassing-Produkts FEIBA unterscheiden. Es zeigte sich, dass die High-Responder signifikant häufiger auf den Gebrauch von FEIBA angewiesen waren als die Low-Responder ( $p = 5,134 \times 10^{-8}$ ) (siehe Abb. 22): Von den 75 High-Respondern haben 53 der Patienten FEIBA erhalten (71 %), 22 Patienten kamen ohne den Gebrauch von FEIBA während ihrer ITT aus (29 %). Die Low-Responder benötigten weitaus seltener das FEIBA: Nur 8 Patienten hatten während ihrer Immuntoleranztherapie FEIBA (18,6 %), die restlichen 35 hatten kein FEIBA (81,4 %).

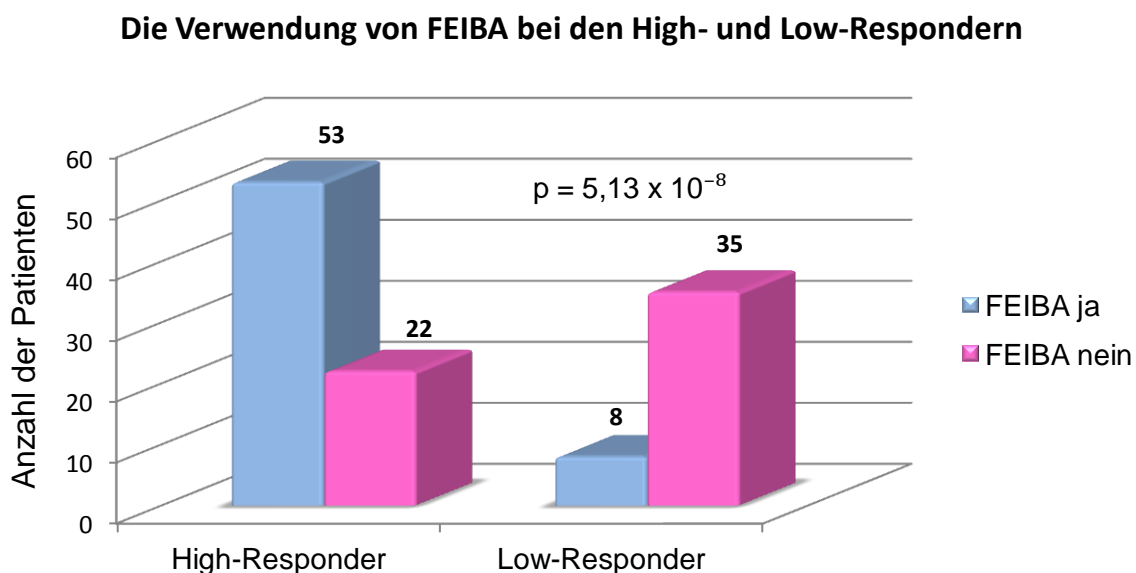


Abb. 22: Bedarf an FEIBA in der Patientengruppe der Low- und High-Responder

Mit der zweiten Analyse wurde untersucht, ob sich die Hemmkörper-Spitzenspiegel in der Subgruppe der Low- bzw. High-Responder, die FEIBA erhalten haben, von jenen Patienten unterscheiden, die während ihrer Immuntoleranztherapie kein FEIBA erhalten haben. Bei den 52 High-Respondern, die FEIBA verwendet haben, liegt der durchschnittliche Hemmkörperspitzenspiegel bei 702 BE, die High-Responder die während ihrer ITT kein FEIBA verwendet haben hingegen einen Hemmkörperspitzenspiegel von durchschnittlichen 326 BE. Unter der Anwendung eines Zweistichproben-t-Tests konnte kein signifikanter Unterschied dieser zwei Gruppen festgestellt werden ( $p = 0,2818$ ). Die selbe Analyse wurde für die Subgruppe der Low-Responder durchgeführt, hier konnte jedoch auch kein signifikanter Unterschied im Hemmkörperspitzenspiegel und der Verwendung bzw. nicht-Verwendung von FEIBA festgestellt werden ( $p = 0,7790$ ).

#### 4.12 Der Therapieerfolg und die Therapiedauer im Bonner Hämophilie-Zentrum vor und ab 1990

Die Unterteilung des Bonner Patientenkollektives in Patienten mit Therapiebeginn vor bzw. ab 1990 gründet u.a. auf der Tatsache, dass erst ab 1990 hochgereinigte Faktor VIII Produkte zur Verfügung standen und zwischen diesen zwei Gruppen noch weitere Parameter in ihrer Ausprägung unterschiedlich verteilt sind (z.B. vWF-Gehalt der FVIII Produkte, Herstellungsmethode der Faktor VIII Produkte (plasmatisch/rekombinant), HIV-, Hepatitis B- und C-Infektion, Hepatitis-B-Impfung, Alter zu Therapiebeginn, Verwendung eines Port-A-Caths®; vergleiche hierzu Abschnitt 5.12).

In der Gruppe der 75 High Responder hatten 33 Patienten ihren Therapiebeginn vor dem Jahre 1990. Davon sind 25 Patienten erfolgreich und 6 Patienten nicht erfolgreich verlaufen. Verglichen mit diesen Patienten lässt sich hier kein signifikanter Unterschied in der Erfolgsquote von jenen Patienten, die ihre ITT im Jahre 1990 oder später begonnen haben, feststellen ( $p = 0,2629$ ). In der Gruppe der 42 Patienten mit dem Therapiebeginn nach 1990 sind 24 Patienten erfolgreich und 11 nicht erfolgreich verlaufen. In der Subgruppe der 37 erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des Therapieschemas, liegt die durchschnittliche Therapiedauer der 17 Patienten mit Therapiebeginn vor dem Jahre 1990 bei 613 Tagen und damit um 323 Tage kürzer als die durchschnittliche Therapiedauer von den Patienten mit Therapie-

beginn im Jahre 1990 oder später (Mittelwert der Therapiedauer 936 Tage). Somit lässt sich eine Tendenz erkennen, die jedoch nur einen grenzwertigen Signifikanzwert von  $p = 0,085$  aufweist.

Diese Tendenz lässt sich deutlicher in der Subgruppe der 43 Low Responder reproduzieren: 22 Patienten dieser Subgruppe hatten ihren Therapiebeginn vor dem Jahre 1990. Ihre durchschnittliche Therapiedauer beträgt 302 Tage. 21 Patienten dieser Low-Responder begannen ihre ITT während oder nach dem Jahre 1990 und benötigten eine durchschnittliche Dauer von 730 Tagen bis zum Therapieerfolg. Unter Anwendung eines t-Tests, konnte hier ein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer dieser zwei Gruppen festgestellt werden ( $p = 0,00055$ ) (siehe Abb. 23).

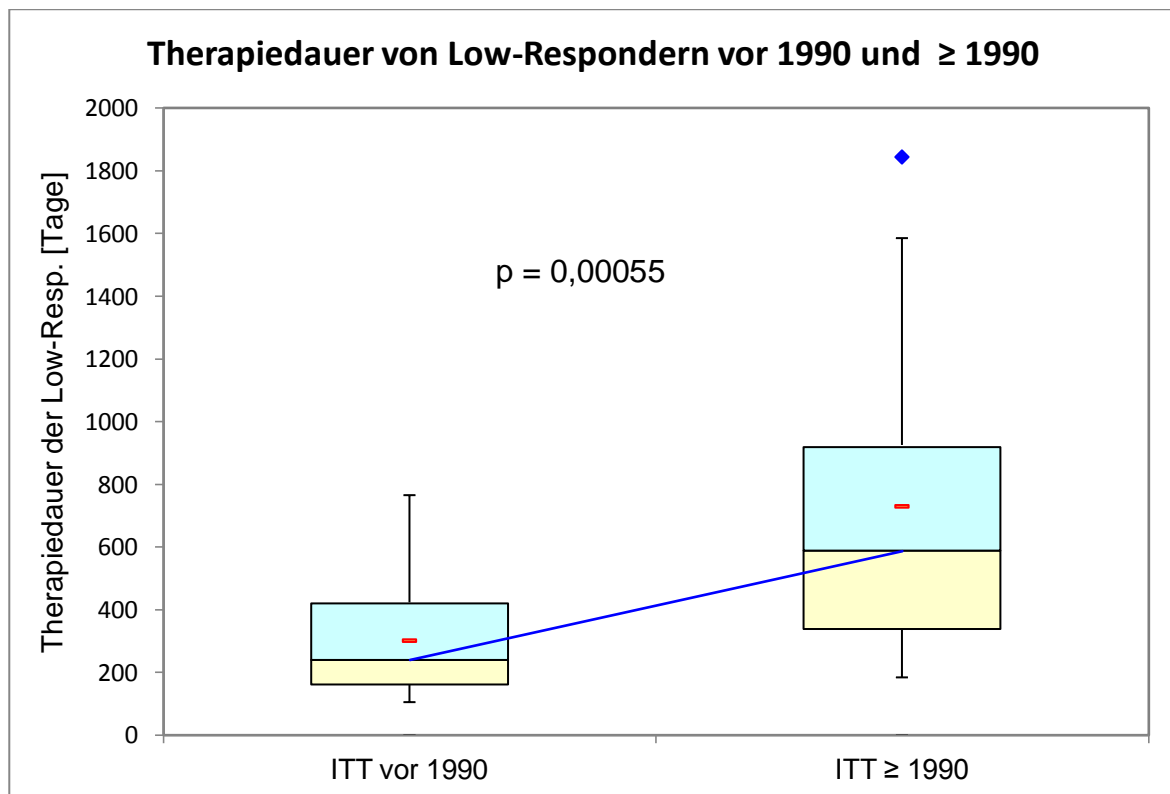


Abb. 23: Box-Whisker-Plot der Therapiedauer von jenen erfolgreichen Low-Respondern im Bonner Hämophilie-Zentrum mit Therapiebeginn vor 1990 bzw. ab 1990

Somit muss besonders in der Subgruppe der Low-Responder bei der Analyse des Einflusses eines Parameters auf die Therapiedauer darauf geachtet werden, ob die Ausprägung eines Parameters in der Zeitspanne vor bzw. ab 1990 ungleich verteilt ist.

Parameter, deren Ausprägung in den zwei Gruppen (Patienten mit Therapiebeginn vor 1990 bzw. ab 1990) stark ungleich verteilt ist, sind die HIV-Infektion, Hepatitis-B-Infektion, Hepatitis-C-Infektion, die Hepatitis-B-Impfung, das Alter zu Therapiebeginn und die unterschiedlichen Faktor VIII Produkte. Bei diesen Parametern kann nicht unterschieden werden, ob sie die Therapiedauer beeinflussen, oder ob ein anscheinender Zusammenhang nur durch die ungleiche Verteilung in den oben genannten zwei Gruppen zu Stande kommt. Um dieses Problem zu lösen, ist die getrennte Analyse dieser Parameter in diesen zwei Gruppen die logische Konsequenz, jedoch ergeben sich hieraus relativ kleine Patientenzahlen, was die Aussagekraft einschränkt.

#### 4.13 Hepatitis B, Hepatitis C, HIV und Hepatitis-B-Impfung während der Immuntoleranztherapie

Da hämophile Patienten häufig Kontakt mit Blutprodukten haben, zählen sie zu der Risikogruppe, die sich gehäuft mit über den Blutweg übertragbaren Krankheitserregern infizieren. Die größte klinische Relevanz haben hierbei das Humane Immundefizienz Virus (Typ I und II) und das Hepatitis B und C Virus. Für den HI-Virus und die Hepatitis C existiert bis heute noch keine effektive Schutzimpfung.

##### 4.13.1 Prävalenz von Hepatitis B, Hepatitis C und HIV im Gesamtkollektiv

Aus dem Gesamtkollektiv von 118 Patienten sind 32 Patienten HIV positiv (27,1 %), 83 Patienten HIV negativ (70 %). Bei drei Patienten konnte diese Information nicht erhoben werden.

45 Patienten aus dem Gesamtkollektiv haben eine (aktive oder inaktive) Hepatitis B (38,1 %), 69 Patienten sind Hepatitis B negativ (58,5 %). Von 4 Patienten ist der Serostatus bzgl. Hepatitis B unbekannt.

Die Prävalenz der Hepatitis C in dem Gesamtkollektiv beträgt 32,2 % (38 Patienten). 66 Patienten sind Hepatitis C negativ (56 %). Bei 14 Patienten ergab die Datenerhebung keine Informationen zu diesem Parameter.

Aus dem Gesamtkollektiv hat bei 66 Patienten (56 %) eine Hepatitis-B-Impfung vor oder während der Immuntoleranztherapie stattgefunden, 42 Patienten (35,6 %) waren

während dieser Zeitspanne nicht geimpft. Bei 10 Patienten konnte der Impfstatus nicht eruiert werden.

#### 4.13.2 Einfluss von HIV, Hepatitis B, Hepatitis C und der Hepatitis-B-Impfung auf den Therapieerfolg

Unter den 59 High-Respondern ohne eine Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas mit einer Aussage zum HIV-Status, gibt es 11 HIV positive Patienten, davon sind 7 Patienten erfolgreich und 2 Patienten nicht erfolgreich verlaufen (2 sind ausgeschieden). 48 Patienten in dieser Gruppe sind HIV negativ, davon 28 erfolgreich und 14 nicht erfolgreich (2 sind ausgeschieden, 4 „ongoing“). Auf Grund der kleinen Patientenzahl wurde als statistische Rechenmethode ein Fisher-Exakt-Test angewendet, mit dem kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem HIV Serostatus und dem Therapieerfolg festgestellt werden konnte ( $p = 0,7012$ ).

In der selben Subgruppe konnte auch für die Hepatitis B ( $p = 0,7604$ ), Hepatitis C ( $p = 0,7433$ ) und die Patienten mit einer Hepatitis-B-Impfung ( $p = 0,1358$ ) kein signifikanter Einfluss auf den Therapieerfolg festgestellt werden.

#### 4.13.3 Einfluss von HIV, Hepatitis B, Hepatitis C und der Hepatitis-B-Impfung auf die Therapiedauer

Die Hepatitis B-, Hepatitis C- und HIV-Infektion und die Patienten mit einer Hepatitis-B-Impfung, werden in dieser Arbeit als Einflussparameter auf den Erfolg und Dauer der Immuntoleranztherapie untersucht. Hier ist zu beachten, dass HIV-, Hepatitis B- und Hepatitis C-positive und nicht gegen Hepatitis B geimpfte Patienten in der Gruppe der Patienten, die ihren Therapiebeginn vor dem Jahre 1990 hatten, stark überrepräsentiert sind. Wie im Abschnitt 4.12 geschildert, ist die Therapiedauer jener Patienten mit Therapiebeginn vor dem Jahre 1990 durchschnittlich kürzer, als bei jenen Patienten mit Therapiebeginn ab 1990. Somit mussten diese vier Parameter, zur Beurteilung des Einflusses auf die Therapiedauer, separat in der Subgruppe der Patienten mit Therapiebeginn vor 1990 analysiert werden. Dies hat jedoch zur Folge, dass die Patientenzahlen dieser stark eingegrenzten Subgruppe relativ gering werden:

In der Subgruppe der 17 erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieschemas mit Therapiebeginn vor dem Jahre 1990, konnte für

die HIV- ( $p = 0,2367$ ), Hepatitis B- ( $p = 0,5655$ ) und Hepatitis C- ( $p = 0,1565$ ) Infektion kein signifikanter Einfluss auf die Therapie-Dauer festgestellt werden.

Der Vergleich der Therapiedauer von Patienten, die gegen Hepatitis B geimpft sind gegenüber nicht geimpften Patienten, lässt eine interessante Tendenz erkennen: Die 5 geimpften Patienten der oben genannten Subgruppe, zeigen eine durchschnittliche Therapiedauer von 1047 Tagen (Median: 825 Tage). Diese liegt deutlich höher, als die durchschnittliche Therapiedauer von den 9 Patienten, die nicht gegen Hepatitis B geimpft wurden (Mittelwert: 312 Tage, Median: 220). Der t-Test bestätigt selbst bei dieser geringen Patientenzahl einen signifikanten Unterschied in der Therapiedauer ( $p = 0,023$ ) (siehe Abb. 24).

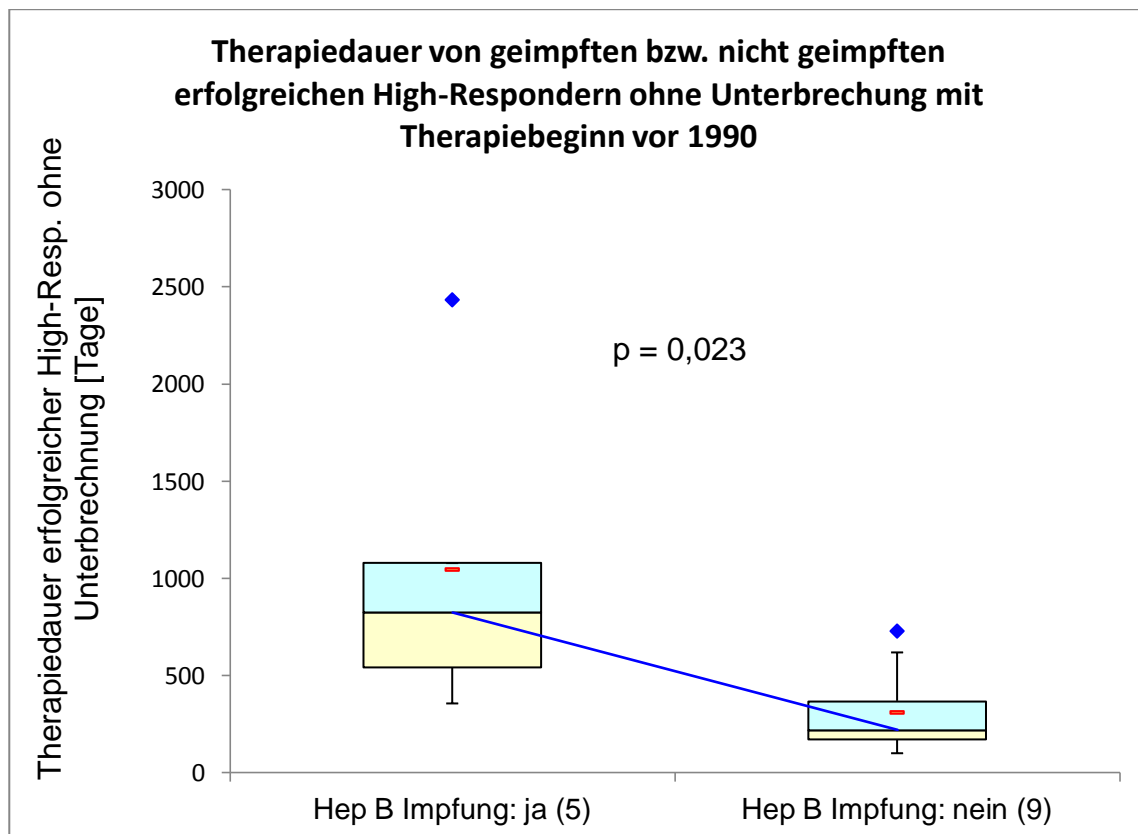


Abb. 24: Box-Whisker-Plot der Therapiedauer von Hepatitis B geimpften bzw. nicht geimpften High-Respondern mit Therapiebeginn vor 1990

In der Subgruppe der 22 Low-Responder mit Therapiebeginn vor dem Jahre 1990, konnte für die Hepatitis-B-Infektion ( $p = 0,8714$ ), die Hepatitis-C-Infektion ( $p = 0,5133$ ), die HIV-Infektion ( $p = 0,739$ ) und die Hepatitis-B-Impfung ( $p = 0,6866$ ) kein signifikanter Einfluss auf die Therapiedauer festgestellt werden.

#### 4.14 Das Alter zu Beginn der Immuntoleranztherapie

##### 4.14.1 Einfluss des Alters bei ITT Beginn auf den Erfolg der Immuntoleranztherapie

Unter den 62 High-Respondern ohne Unterbrechung ihres hochdosierten Therapieprotokolls konnte zwischen erfolgreichen (37) und nicht erfolgreichen (16) Patienten kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Alters zu Beginn der Immuntoleranztherapie festgestellt werden ( $p = 0,944$ ).

##### 4.14.2 Einfluss des Alters bei ITT Beginn auf die Therapiedauer

Für die Analyse des Zusammenhangs zwischen dem Alter der Patienten zu Beginn der Immuntoleranztherapie und der Therapiedauer, wurden als Patientenkollektive die Subgruppe der erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls und die Subgruppe der Low-Responder gewählt. Diese zwei Gruppen wiederum, mussten dahingehend differenziert werden, ob die Therapie vor oder nach dem Jahre 1990 begonnen wurde.

Die Unterscheidung dieser zwei Zeitabschnitte ist erforderlich, da in dem Kollektiv mit Therapiebeginn vor 1990 das Alter zu Therapiebeginn, im Vergleich zum Patientenkollektiv mit Therapiebeginn nach 1990, signifikant höheren ist ( $p = 0,0019$ ). Die durchschnittliche Therapiedauer der Patienten, die ihre ITT vor 1990 begonnen haben ist signifikant kürzer, gegenüber den Patienten, die ihre ITT nach 1990 begonnen haben. So würde unter Vernachlässigung dieser Tatsache ein falscher Zusammenhang zwischen dem Alter zu Therapiebeginn und der Therapiedauer entstehen.

In der Subgruppe der 37 erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls, konnte in der linearen Regressionsanalyse sowohl bei den 17 Patienten mit Therapiebeginn vor 1990 ( $p = 0,7757$ ;  $R^2 = 0,0055$ ), als auch bei den 20 Patienten mit Therapiebeginn nach 1990 ( $p = 0,4732$ ;  $R^2 = 0,029$ ) kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Therapiedauer und dem Alter zu Therapiebeginn festgestellt werden.

Diese 17 erfolgreichen High-Responder mit dem Therapiebeginn vor 1990 wurden auch in 2 Gruppen eingeteilt, je nachdem ob sie noch ein „unreifes“ Immunsystem (5 Patienten mit einem Therapiebeginn im Alter jünger als 5,5 Jahre) oder das



Immunsystem schon „ausgereift“ ist (12 Patienten mit einem Therapiebeginn im Alter > 10 Jahre). Die 5 jüngeren Patienten zeigten dabei eine durchschnittliche Therapiedauer von 497 Tagen, die 12 „älteren“ Patienten eine durchschnittliche Therapiedauer von 662 Tagen. Dieser Unterschied der Therapiedauer kann jedoch nicht als signifikant bezeichnet werden ( $p = 0,595$ ). Auch bei den Low-Respondern konnte bei den 22 Patienten mit Therapiebeginn vor 1990 ( $p = 0,5663$ ;  $R^2 = 0,017$ ) und den 21 Patienten mit Therapiebeginn ab 1990 ( $p = 0,1062$ ;  $R^2 = 0,1314$ ) kein Zusammenhang erkannt werden. Genauso wenig erbrachte die Unterteilung der Low Responder in Patienten mit einem „jungen“ Immunsystem (11 Patienten mit einem Therapiebeginn im Alter jünger als 10 Jahre) und Patienten mit einem „reifen“ Immunsystem (11 Patienten mit einem Therapiebeginn im Alter > 10 Jahre) einen signifikanten Unterschied in der Therapiedauer ( $p = 0,7654$ ). Das Patientenkollektiv mit Therapiebeginn nach 1990 wurde ebenfalls bei den High- und Low-Respondern in eine Gruppe von Patienten mit einem „jungen“ und eine Gruppe mit einem „reifen“ Immunsystem unterteilt. Ab 1990 haben jedoch zu wenige „ältere“ Patienten (älter als 10 Jahre) mit ihrer Immuntoleranztherapie begonnen, sodass hier die Durchführung statistischer Tests nicht sinnvoll ist.

Somit kann in dieser Studie aus dem Alter der Patienten zu Therapiebeginn die Therapiedauer nicht vorher gesagt werden.

#### 4.15 Multivariate Analyse der Einflussparameter

Die statistische Analyse der einzelnen Parameter, die einen vermeintlichen Einfluss auf die Dauer und den Erfolg der Immuntoleranz ausüben, bringt das Problem mit sich, dass hierbei die gegenseitige Beeinflussung der Parameter nicht berücksichtigt wird. So zeigen die oben dargestellten Ergebnisse nicht, ob ein Analyseparameter unabhängig/ eigenständig die Zielgröße (Therapiedauer bzw. Therapieerfolg) beeinflusst. Aus diesem Grund wurden in dieser Arbeit, nach der statistischen Analyse der Einzelparame-ter, multivariate Analyseverfahren eingesetzt, um die Einflussgrößen herauszufinden, die unabhängig die Therapiedauer und den Therapieerfolg der Immuntoleranztherapie beeinflussen. Hierbei wird ein statistisches Modell erstellt, das am Ende jene Einflussparameter hervorbringt, mit denen die Zielgrößen (Therapieerfolg bzw. Therapiedauer) am besten vorhergesagt werden können.

Die Ergebnisse der jeweiligen multivariaten Analysemodelle sind in unten stehender Tabelle abzulesen (siehe Tab. 6).

| Zielgröße                           | Erfolg                | Dauer                 |                      |
|-------------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| Subgruppe                           | High-Responder (n=56) | High-Responder (n=56) | Low-Responder (n=31) |
| <b>Unabhängige Einflussfaktoren</b> | HK <> 50 BE (0,0129)  | vWF (0,0030)          | HK Peak (0,0032)     |
|                                     |                       | FEIBA (0,0022)        | Start HK (0,0177)    |
|                                     |                       | HepB Impf (0,0039)    | ITT ab '90 (0,0088)  |
|                                     |                       |                       | No7a (0,0085)        |
|                                     |                       |                       | N_Blt (0,0740)       |

Tab. 6: Ergebnisse der schrittweisen Regressionsanalysen. In Klammern sind die jeweiligen p-Werte aufgeführt. Die Abkürzungen werden im Text beschrieben.

Durch die Anwendung der schrittweisen logistischen Regression für die binäre Zielstruktur des Therapieerfolgs, unter den für diese Analyse zur Verfügung stehenden 56 High-Respondern des Bonner Patientenkollektives, konnte sich ein Parameter als stärkster unabhängiger Prädiktor für den Therapieerfolg herausstellen: Die Unterteilung der High-Responder in Patienten mit einem Hemmkörperspitzenpegel < bzw. > 50 BE (HK <> 50BE). Hierbei zeigen die Patienten mit einem historischen Hemmkörperspiegel der höher als 50 BE ist eine geringere Erfolgsquote.

Genauso wie der Therapieerfolg, so wird auch die Therapiedauer von mehreren Parametern parallel beeinflusst, sodass für diese lineare Zielgröße (Therapiedauer) eine multivariate Regressionsanalyse durchgeführt wurde. Hierbei wurden drei Einflussparameter gefunden, die einen eigenständigen Einfluss auf die Therapiedauer ausüben: Unter den 56 für die statistische Analyse verwendeten High-Respondern, stellten sich die Hepatitis-B-Impfung (gegen Hepatitis B geimpfte Patienten benötigen eine längere Therapiedauer), die Verwendung des Bypassing-Produktes FEIBA (musste während der ITT FEIBA verwendet werden, so dauerte die Therapie insgesamt länger) und der Gehalt des FVIII-Produktes an von-Willebrand-Faktor (vWF) als unabhängige Einflussparameter dar. Hierbei zeigte sich, dass die Patienten, die ein vWF-haltiges Faktor VIII Produkt verwenden, eine kürzere Therapiedauer im Vergleich zu Patienten mit einem vWF-freien Produkt beanspruchen. Die Patienten, die von einem vWF-freien

Produkt auf ein vWF-haltiges Produkt umgestellt werden mussten, benötigten die längste Therapiedauer.

Für die multivariate Analyse der Therapiedauer in der Subgruppe der Low-Responder standen 31 Patienten zur Verfügung. Als Analyseparameter, die unabhängig die Therapiedauer beeinflussen, haben sich der Hemmkörper-Spitzen Spiegel (HK Peak), der Hemmkörperspiegel zu Therapiebeginn (Start HK), der Einsatz von NovoSeven (No7a), die Anzahl schwerer Blutungen (N\_Blt) und der Parameter, ob die Therapie vor bzw. ab 1990 begonnen wurde (ITT ab '90) herausgestellt. Hierbei lassen sich folgende Abhängigkeiten formulieren: Umso höher der historische Hemmkörper-Spitzen Spiegel und der Hemmkörpertiter zu Therapiebeginn gemessen werden, desto länger ist die Therapiedauer in der Subgruppe der Low-Responder. Patienten, die während der ITT auf den Gebrauch des NovoSevens angewiesen waren, mussten letztendlich länger therapiert werden. Genauso wie in der univariaten Analyse, konnte bei Patienten, die vor 1990 ihren Therapiebeginn hatten, eine durchschnittlich kürzere Therapiedauer festgestellt werden. Auch die Anzahl der schweren Blutungen scheint die Zielgröße „Therapiedauer“ eigenständig vorherzusagen, wobei eine große Anzahl an Blutungen die Therapiedauer verlängert.

Andere signifikante Einflussparameter aus den univariaten Analysemodellen erlangen bei der multivariaten Analyse keinen weiteren Einfluss für die Prädiktion der Zielgrößen.

## 5. Diskussion

### 5.1 Erfolg und Dauer in den einzelnen (Sub)Gruppen

Nicht jeder der 118 Patienten wurde mit einer Eradikationstherapie entsprechend des klassischen Bonnprotokolls behandelt: So wurde lediglich bei 82 Patienten das klassische Bonn Protokoll mit einer zweimal täglich hochdosierten Faktor VIII Substitution durchgeführt. In dieser Gruppe befinden sich 20 Low-Responder (24 %) und 62 High-Responder (76 %). 9 Patienten hatten während ihrer Immuntoleranztherapie Abweichungen von diesem Schema, was als „Bonnprotokoll mit Unterbrechung“ bezeichnet wird. Die restlichen 27 Patienten hatten eine Therapie, die nicht dem klassischen Bonnprotokoll in Dosierung und/oder Applikationsfrequenz entspricht. In dieser Gruppe befinden sich 20 Low-Responder (74 %) und 7 High-Responder (26 %). Bei der Betrachtung dieser Zahlen fällt auf, dass die Low-Responder prozentual häufiger mit einem Therapieprotokoll behandelt werden, das nicht dem klassischen Bonnprotokoll entspricht. Die Ursache dafür liegt in der Tatsache, dass Low-Responder eine sehr gute Prognose haben, sodass auch eine geringere Dosierung bzw. eine seltenere Applikationsfrequenz des Faktor VIII ebenfalls zur Immuntoleranz führt. Bei High-Respondern hingegen hat es sich gezeigt, dass die Durchführung des Bonn Protokolls zu den besten Resultaten führt (Kroner, 1999), weshalb diese Therapieform bei High-Respondern auch häufiger zum Einsatz kommt.

Die Eradikation des Hemmkörpers ist im Bonner Gesamtkollektiv bei 78 % der Patienten gelungen, bei 14,4 % wurde die Immuntoleranztherapie als gescheitert erklärt. Bei allen 43 Low-Respondern ist die Therapie erfolgreich verlaufen.

Bei den High-Respondern haben ca. drei von vier Patienten eine erfolgreich abgeschlossene Immuntoleranztherapie (74,2 %), wohingegen bei dem restlichen Viertel (25,7 %) die Therapie nicht erfolgreich verlaufen ist.

Die Schwierigkeit die Erfolgsquoten und die Therapiedauer mit anderen Studien zu vergleichen, liegt in der teilweise unterschiedlichen Definition des Therapieerfolgs und des Zeitpunktes einer abgeschlossenen Immuntoleranztherapie. In dieser Arbeit wurden relativ strenge Kriterien für den Therapieerfolg definiert (vgl. Abschnitt 3.4.2), wodurch die Dauer bis zum Therapieerfolg verlängert wird. Desweiteren werden die

Erfolgsquote und Therapiedauer von der Tatsache beeinflusst, dass die Patienten im Bonner Hämophilie Zentrum auch bei einem erfolglos erscheinenden Verlauf erst nach der Ausschöpfung aller therapeutischen Möglichkeiten als „nicht erfolgreich“ deklariert werden. Bei ein paar Patienten ist es so gelungen, nach einer längeren Therapiephase die Immuntoleranz doch noch zu erreichen.

Jedoch entsprechen die in dieser Arbeit ermittelten Erfolgsquoten für die einzelnen Patientenkollektive den Ergebnissen von anderen Studien: Für die Immuntoleranztherapie von High- und Low-Respondern zusammen, werden Erfolgsraten von 70 % bis zu 90 % angegeben (DiMichele et al., 2002; Haya et al., 2001; Kessler, 2005; Lenk et al., 2000). Betrachtet man nur die Erfolgsquote für die Subgruppe der High-Responder, so werden in der Literatur Erfolgsquoten von 60-80 % angegeben (Mariani et al., 1994; Tellier et al., 2009), was der Erfolgsquote unserer Studie entspricht (74,2 %).

In der randomisierten prospektiven Multicenterstudie, der „International Immune Tolerance Induction study“ (DiMichele und Hay, 2012), wurde von 115 High-Respondern der Median der Dauer der Immuntoleranztherapie mit knapp 16 Monaten bestimmt. Bei den erfolgreichen High-Respondern ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls im Bonner Patientenkollektiv liegt der Median für die Therapiedauer bei 23 Monaten. Somit hat es den Anschein, dass die Therapiedauer der Bonner High-Responder im Vergleich zur „International ITI-study“ länger ist. Jedoch haben beide Studien einen unterschiedlichen Ausgangspunkt: In der „International ITI study“ wurden nur Patienten mit einem Hemmkörpertiter zwischen 5 und 200 BE Einheiten eingeschlossen, Patienten mit einem noch höheren Hemmkörpertiter werden in dieser Studie nicht erfasst. Desweiteren wurde die Immuntoleranztherapie erst bei Hemmkörpertitern < 10 BE begonnen, was nach Haya et al. (2001) einen günstigen Einfluss auf die ITT-Dauer ausübt. Somit weisen die Patienten in unserer Arbeit eine schlechtere Ausgangssituation auf, wodurch die längere Dauer bis zum Therapieerfolg erklärbar ist.

Einen weiteren Grund für die unterschiedliche Therapiedauer zwischen den Patienten des Bonner Kollektives und den Patienten der „International ITI study“ lässt sich eventuell in der Tatsache finden, dass bei der „International ITI study“ die Dauer der

Dosisreduktion (entsprechend t3) auf drei Monate festgelegt wurde. Einen solchen vorgegeben zeitlichen Rahmen für die Dosisreduktion wurde für das Bonner Kollektiv nicht angesetzt, sondern die Geschwindigkeit der Dosisreduktion vielmehr individuell dem aktuellen Hemmkörpertiter, der 12h- bzw. 24h-Recovery und dem klinischen Bild des Patienten angepasst. Somit kann beim Bonner Patientenkollektiv die Dosisreduktion auch einen längeren Zeitraum in Anspruch nehmen, was sich dann auch in einer längeren Gesamttherapiedauer niederschlägt. Jedoch lässt sich die Vermutung äußern, dass eine länger dauernde und individuell angepasste Dosisreduktionsphase (t3) zu einer geringeren Rückfallquote („relaps“) des Hemmkörpers führt: In der „International ITI study“ von DiMichele und Hay wurde innerhalb der ersten 12 Monate ein Wiederauftreten eines klinisch relevanten Hemmkörpers nach erfolgreich abgeschlossener ITT bei 6 von 37 Patienten (16,2 %) beobachtet, wohingegen beim Bonner Patientenkollektiv ein Wiederauftreten eines klinisch relevanten Hemmkörpers (>2 BE) nur bei 3 von 92 erfolgreich verlaufenen Patienten (3,3 %) im Langzeitverlauf, d.h. in der gesamten Nachbeobachtungszeit, zu sehen war. Vermutlich wird eine langfristige Immuntoleranz für das Faktor VIII Protein ohne Wiederauftreten des Hemmkörpers deutlich häufiger erreicht, wenn die Faktor VIII Dosis schrittweise über einen längeren Zeitraum reduziert wird. Eine zu schnelle Reduktion der Dosis bis zur Erhaltungsdosis könnte den Langzeiterfolg einer erfolgreichen Immuntoleranz durch das Wiederauftreten des Hemmkörpers gefährden.

## 5.2 Die Zeitabschnitte der Immuntoleranztherapie

Die Latenzphase zwischen dem Auftreten des Hemmkörpers und dem Beginn der Immuntoleranztherapie wurde dahingehend untersucht, ob diese Zeitspanne den Erfolg und die Dauer der Immuntoleranztherapie beeinflusst. Sowohl für den Therapieerfolg als auch die Therapiedauer, konnte in dieser Arbeit kein Zusammenhang hinsichtlich der Latenzzeit zwischen dem Auftreten des Hemmkörpers und dem Therapiebeginn (t1) festgestellt werden.

Mit einer etwas anderen Einteilung konnte Mariani und Kroner (2001) einen Einfluss auf den Therapieerfolg feststellen: Die Immune Tolerance Study Group (ITSG) beschreibt einen negativen Einfluss auf den Therapieerfolg bei Patienten, bei denen die Latenzzeit länger als 5 Jahre beträgt.

Andere Autoren wiederum, konnten keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Latenzzeit bis zum Beginn der ITT und dem Therapieerfolg feststellen (DiMichele et al., 2002; Lenk et al., 2000; Rocino et al., 2001).

Heutige Empfehlungen zum Zeitpunkt des Therapiebeginns berücksichtigen die Höhe des Hemmkörper-Titers. Falls möglich, sollte mit dem Beginn der ITT solange abgewartet werden, bis der Hemmkörper einen günstigeren Ausgangsbereich (unter 10 BE) erreicht hat (Haya et al., 2007; Hay et al., 2006). Hierdurch kann das Zeitintervall t1 um einige Wochen oder Monate verlängert werden.

Auch unabhängig von den Ergebnissen von Kroner und Mariani ist ein frühzeitiger Therapiebeginn zu empfehlen, um die Patienten unter den „Schutz“ eines hochdosierten Therapieprotokolls zu stellen, damit Komplikationen wie Blutungen und Krankenhausaufenthalte verhindert werden können.

### 5.3 Die Patientencompliance

Die Immuntoleranztherapie fordert von den Patienten ein großes Maß an Eigenständigkeit, Selbstverantwortung und eine enge Zusammenarbeit mit dem therapeutischen Team. Vor dem Beginn einer Immuntoleranztherapie sollte geklärt werden, ob der Patient bzw. die Eltern eines hämophilen Kindes die oben genannten Eigenschaften gewährleisten können (Brackmann et al., 1999). Mängel in der Compliance führen besonders dann zu Problemen, wenn die regelmäßige und korrekte Faktor-VIII Substitution nicht mehr entsprechend dem Therapieplan durchgeführt wird, der Arzt bei Komplikationen, wie z.B. bei Blutungen nicht kontaktiert wird und die regelmäßigen Kontrolltermine nicht eingehalten werden (vgl. Abschnitt 3.4.4).

Es konnte gezeigt werden, dass selbst bei einer kurzzeitigen Unterbrechung der regelmäßigen Substitution die Therapiedauer verlängert oder sogar der Therapieerfolg gefährdet werden kann (Oldenburg et al., 1999; Kreuz et al., 1995). Nach einer Unterbrechung und der darauf folgenden Wiederaufnahme der Substitution kann es zu einem sogenannten Rebooster-Phänomen, ähnlich der Boosterung zu Beginn der Immuntoleranztherapie, kommen (Kreuz et al., 1995). Dadurch steigt der Hemmkörpertiter wieder an, wodurch das Erreichen der Erfolgskriterien zeitlich nach hinten verschoben wird.

Als weiteres Kriterium, das in die Beurteilung der Compliance einfließt, ist die zeitgerechte Kontaktaufnahme mit dem Behandlungszentrum zu nennen, wenn es im Rahmen der Therapie zu Komplikationen gekommen ist. Wird das Hämophilie-Zentrum bei auftretenden Komplikationen nicht entsprechend informiert, so kann dies den Verlauf der Immuntoleranztherapie negativ beeinflussen: Werden z.B. Blutungen nicht durch eine zusätzliche Faktor VIII Gabe bzw. der Gabe von Bypassing-Produkten frühzeitig behandelt, kann die Blutung ein deutlich größeres Ausmaß annehmen. Diese Blutung stellt einen Entzündungsreiz dar, der die Immuntoleranztherapie negativ beeinflussen kann (vgl. Abschnitt 4.8 bzw. 5.8). Somit besteht die Gefahr der Entwicklung eines „target joints“ („Zielgelenk“, bedingt durch einen Circulus vitiosus, der durch verschiedene pathophysiologische Vorgänge die Blutungsneigung in diesem Gelenk massiv erhöht, was letztendlich zur Zerstörung des Gelenks (hämophile Arthropathie) führt) oder der Entwicklung einer chronischen Synovitis, was die Behandlung erschwert. Zur Erkennung und Vermeidung solcher negativen Entwicklungen im Verlauf der Immuntoleranztherapie, sind die frühzeitige Kontaktaufnahme nach einem Blutungsereignis und regelmäßige Kontrolltermine besonders wichtig.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen können den Zusammenhang zwischen der Compliance und dem Therapieerfolg bestätigen. Mängel in der Compliance können den Therapieerfolg gefährden, wobei in unserer Kohorte kein Unterschied in der Erfolgsquote zwischen Patienten mit einer mittelmäßigen im Vergleich zu den Patienten mit einer schlechten Compliance festgestellt werden konnte. Somit deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass jegliche Abweichung von der erwünschten Compliance einen negativen Einfluss auf den Therapieerfolg haben kann. Dies erweckt den Anschein, dass der Einflussparameter „Compliance“ einem „Alles-oder-Nichts“ Prinzip unterliegt: Entweder wird die ITT mit der gewünschten Compliance durchgeführt, woraus eine hohe Erfolgsquote resultiert, oder es treten Mängel in der Compliance auf, die die Erfolgsquote deutlich reduzieren. Jedoch konnte in der Subgruppe der erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls kein Einfluss der Compliance auf die Therapiedauer festgestellt werden. Dies könnte dadurch zu erklären sein, dass nicht erfolgreiche High-Responder für diese Analyse nicht betrachtet wurden.



Unsere Untersuchungen zeigen auch, dass die Low-Responder eine durchschnittlich bessere Compliance zeigen. Hier scheinen psychologische Effekte eine Rolle zu spielen, da Low-Responder, auf Grund ihrer generell besseren Prognose, in kurzer Zeit klinische und laborchemische Fortschritte erfahren, was die Therapiefreudigkeit der Patienten erhöht. Andererseits kann auch eine schlechte Compliance zu einer Erhöhung des Hemmkörpertiters führen, wodurch ein Patient mit einem anfangs niedrigen Hemmkörpertiter zu einem High-Responder werden kann.

Vergleichsstudien in der Fachliteratur zur Patientencompliance bei Hemmkörper-Patienten während einer Immuntoleranztherapie gibt es noch nicht. Jedoch konnte in dieser Studie die große Relevanz einer guten Patientencompliance gezeigt werden. Das therapeutische Team sollte großen Einsatz zeigen, die Compliance der Patienten zu fördern und die Patienten immer wieder daran erinnern, dass der Therapieerfolg stark von der guten Zusammenarbeit zwischen Patienten und dem Behandler-Team abhängig ist.

#### 5.4 Von-Willebrand-Faktor haltige Präparate/ Von-Willebrand-Faktor freie Präparate

Aus dem Bonner Patientenkollektiv hat nur eine geringe Anzahl an Patienten ein vWF-freies Präparat während ihrer Immuntoleranztherapie erhalten. Der Vergleich der Erfolgsquote und der Therapiedauer zwischen Patienten, die ein vWF-freies bzw. vWF-haltiges Präparat während ihrer ITT erhalten haben, lässt trotz der geringen Patientenzahl eine Tendenz erkennen: Die High-Responder, bei denen die Immuntoleranztherapie mit einem vWF-haltigen Präparat durchgeführt wurde, zeigen eine höhere Erfolgsquote (78 % bei jenen Patienten mit vWF-haltigen Präparaten im Vergleich zu 54,5 % bei Patienten mit einem vWF-freien Präparat) und einen kürzeren Therapieverlauf (712 Tage im Vergleich zu 1183 Tage). Bei Low-Respondern konnte dieser Zusammenhang jedoch nicht erkannt werden. Der Zusammenhang zwischen dem Therapieverlauf und dem vWF-Gehalt des Faktor VIII Präparats bei High-Respondern wurde schon 2001 von Kreuz et al. beschrieben: Es wurde die Beobachtung gemacht, dass die Erfolgsquote unter den Patienten mit einem hochgereinigten Präparat, dass kein vWF enthält, geringer ist, als von den Patienten, die ein vWF-haltiges Präparat verwendet haben. Patienten die initial mit einem vWF-freien Präparat behandelt wurden und unter diesem Präparat keinen Erfolg erkennen ließen,

wurden auf ein vWF-haltiges Präparat umgestellt, woraufhin die Therapie erfolgreich wurde. Auch Auerswald spricht den vWF haltigen Präparaten eine höhere Erfolgsquote in der Durchführung der Immuntoleranztherapie zu (Auerswald et al., 2003).

Die Immunogenität eines Proteins beschreibt die Eigenschaft, wie stark dieses Protein das Immunsystem zu aktivieren vermag. Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass die Immunogenität des Faktor VIII Proteins in Abwesenheit des vWF stärker ausgeprägt ist, gegenüber dem Faktor VIII, der mit dem von-Willebrand-Faktor assoziiert ist (Delignat et al., 2007). Auch die Spezifität des Antikörpers gegen ein Epitop des Faktor VIII Proteins scheint durch die An- bzw. Abwesenheit des vWF beeinflusst zu werden (Behrmann et al., 2002). Der molekularbiologische Mechanismus, wie der vWF das Immunsystem beeinflusst, ist bis heute noch unklar. Der von-Willebrand-Faktor, als ein direkt am Faktor VIII assoziiertes Protein, könnte die Bindung des Antikörpers an das Faktor VIII Protein verhindern, die Halbwertszeit und so die Exposition des Faktor VIII Proteins für das Immunsystem verlängern oder eine eigenständige immunmodulatorische Komponente besitzen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit und anderer Studien legen es nahe, die Immuntoleranztherapie mit einem vWF-haltigen Präparat durchzuführen, besonders wenn der erste Therapieversuch mit einem vWF-freien Präparat nicht zum erwünschten Erfolg geführt hat. Für eine generelle Therapieempfehlung ist die Datenlage jedoch nicht ausreichend.

Um den Einfluss von vWF-haltigen bzw. vWF-freien Präparaten auf den Erfolg und die Dauer der Immuntoleranztherapie zu klären, werden prospektive Studien mit einer größeren Patientenzahl benötigt. Zur Beantwortung dieser Frage wurde 2008 mit der „RESIST study“ begonnen (Gringeri, 2007).

## 5.5 Plasmatische Faktor VIII Präparate/ rekombinante Faktor VIII Präparate

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Art des Faktor VIII Präparates einen Einfluss auf die Immuntoleranztherapie ausübt. Unter den High-Respondern konnte eine längere Dauer der Therapie unter Verwendung eines rekombinanten Faktor VIII Präparats im Vergleich zu plasmatischen Präparaten festgestellt werden. Jedoch steht für die Auswertung nur eine geringe Patientenanzahl zur Verfügung. In der randomisierten

prospektiven „International Immune Tolerance Induction Study“ (Hay und DiMichele, 2012) wurde zwischen den 13 Patienten, die eine Immuntoleranztherapie mit einem plasmatischen Präparat durchgeführt haben und den 102 Patienten mit einem rekombinanten ITT-Präparat kein signifikanter Unterschied in der Therapiedauer festgestellt.

In unserer Studie zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der Erfolgsquote zwischen Patienten mit einem plasmatischen bzw. rekombinanten Präparat. Dieses Ergebnis muss unter dem Gesichtspunkt betrachtet werden, dass bei jenen Patienten, die im Bonner Hämophilie-Zentrum eine Therapie mit einem rekombinanten Produkt begonnen haben und damit keinen Erfolg hatten (6 Patienten), die Therapie mit einem plasmatischen Präparat fortgesetzt wurde. Unter dem plasmatischen Präparat konnte sich dann bei 2 High-Respondern der Erfolg noch einstellen. Somit gibt es in dieser Studie keinen Patienten, der nicht erfolgreich war und ausschließlich mit rekombinanten Präparaten behandelt wurde. Es lässt sich jedoch erkennen, dass nur 2 High-Responder die Therapie mit einem rekombinanten Präparat begonnen haben und mit ausschließlich diesem Präparat erfolgreich verlaufen sind, wohingegen 5 High-Responder die Therapie mit einem rekombinanten Präparat begonnen haben und wegen Erfolglosigkeit der Therapie auf ein plasmatisches Präparat umgestellt werden mussten. Für eine mathematische Analyse dieses Zusammenhangs sind die Patientenzahlen zu klein, aus der deskriptiven Statistik lässt sich jedoch eine schlechtere Erfolgsquote von jenen High-Respondern erkennen, die mit einem rekombinanten Präparat behandelt wurden.

Es gibt viele Theorien, wieso die Art eines Faktor VIII Präparates (plasmatisch oder rekombinant) einen Einfluss auf die Immuntoleranztherapie ausüben könnte. Dem aus dem Humanserum isolierten Faktor-VIII Protein wird von einigen Autoren eine geringere Immunogenität zugesprochen. Bisher ist unklar, ob dies dadurch zu erklären ist, dass die plasmatischen Produkte weitaus mehr vWF enthalten (vgl. Abschnitt 5.4), andere Begleitsubstanzen wie z.B. Humanalbumin, transforming growth factor beta 1 (TGF- $\beta$ 1) oder lösliche Fas-Liganden (CD95L) beinhalten (Ghio et al., 2003), oder das Faktor VIII Protein an sich eine geringere Immunogenität im Vergleich zum gentechnisch hergestellten Faktor VIII aufweist.

In der aktuellen Fachliteratur wird kontrovers diskutiert, ob die Erfolgsquote bzw. Therapiedauer von der Verwendung eines rekombinanten bzw. plasmatischen Faktor VIII Präparates abhängig ist. Kreuz et al. stellten in einer Studie ihres Hämophiliezentrums fest, dass seit der Einführung der hochgereinigten plasmatischen und rekombinanten Präparate die Erfolgsquote des dort durchgeführten Bonn Protokolls signifikant geringer wurde (Kreuz et al., 2003). Auch Franchini empfiehlt für die Behandlung von hämophilen Patienten und zur Durchführung der Immuntoleranztherapie, den Einsatz eines plasmatischen Faktor VIII Präparates (Franchini, 2010). Andere Autoren konnten jedoch auch bei High-Respondern, die mit rekombinanten Präparaten behandelt wurden, eine relativ hohe Erfolgsrate beobachten (Rocino et al., 2006).

Die Ergebnisse dieser und einiger anderer Studien sehen gewisse Vorteile in der Verwendung von plasmatischen Produkten in der Erlangung der Immuntoleranz. Studienergebnisse, die eine deutlich höhere Erfolgsquote von rekombinanten Präparaten belegen, wurden bisher nicht veröffentlicht. Da in den letzten Jahren enorme Fortschritte in der Sicherheit der plasmatischen Produkte bezüglich der Übertragung humanpathogener Viren, wie HIV und Hepatitis A-D erreicht wurden, kann auch aus ökonomischen Gesichtspunkten der Einsatz eines plasmatischen Präparates für die Durchführung der Immuntoleranztherapie empfohlen werden.

## 5.6 Der Hemmkörper

Die Einteilung des Gesamtkollektives dieser Arbeit in High- und Low-Responder und deren separate Analyse basiert auf der Tatsache, dass zwischen diesen zwei Gruppen ein signifikanter Unterschied im Therapieerfolg und der Therapiedauer besteht. Low-Responder haben unabhängig von anderen Einflussfaktoren eine sehr gute Prognose, sodass sie in dieser Arbeit separat betrachtet werden. Bei Low-Respondern kann der niedrigtitrige Hemmkörper durch die hochdosierte Faktor-VIII Gabe „überspielt“ werden, der Hemmkörper ist hier häufiger nicht in der Lage, die gesamte Menge an substituierten Faktor VIII zu neutralisieren. Somit verbleibt eine höhere Menge an Faktor VIII im Blutkreislauf. Es wäre möglich, dass hierdurch das Immunsystem in einem stärkeren und längeren Kontakt mit dem Faktor VIII Protein steht, was die Entwicklung der Immuntoleranz begünstigen könnte.

Ob ein Patient ein High- bzw. Low-Responder ist, stellt somit einer der stärksten prognostischen Faktoren dar, worüber in der Fachliteratur Einigkeit besteht (z.B. Kreuz et al., 1995). In vielen Studien und Registern wurden als die wichtigsten Einflussparameter für das Outcome der Immuntoleranztherapie der Hemmkörpertiter zu Therapiebeginn und der Hemmkörperspitzen-Titer genannt (z.B. Mariani et al., 1994; Mariani et al., 2001; u.v.m). Low-Responder zeigen in diesen beiden Prädiktoren per Definition niedrige Titer ( $< 5$  BE), wodurch die hohe Erfolgsrate und die kurze Therapiedauer erklärbar sind.

Entsprechend unserer Ergebnisse wird, wie auch von vielen anderen Autoren, dem Hemmkörper-Spitzen-Spiegel (HK-Peak) ein großer prognostischer Wert für den Verlauf der Immuntoleranztherapie zugeschrieben (z.B. Damiano und Hutter, 2000; Kroner, 1999; Lenk et al., 2000). In dieser Arbeit lag die Erfolgsquote bei den High-Respondern mit einem HK-Peak  $< 50$  BE bei ca. 95 %, wohingegen nur 56 % der High-Responder mit einem HK-Peak  $> 50$  BE erfolgreich verlaufen sind. Hemmkörper-Spitzenspiegel höher als 50 BE, können somit für den Therapieerfolg und die Therapiedauer als prognostisch ungünstig gewertet werden.

Unter den High-Respondern des Bonner Gesamtkollektives wurde der Median des Hemmkörpertiters zu Therapiebeginn mit 11,45 BE bestimmt, was mit den Ergebnissen von Haya et al. (2001) (Median 11 BE) übereinstimmt und etwas höher liegt als in der Studie von Mariani et al. (2001) (Median 7 BE). Unter der getrennten Betrachtung von High- und Low-Respondern, konnte in dieser Arbeit kein Einfluss des Hemmkörper-Titers zu Therapiebeginn auf den Therapieerfolg und die Therapiedauer festgestellt werden. In der Arbeit von Mariani und Kroner (2002), der Metaanalyse von Kroner (1999) und auch in dem spanische Register (Haya et al., 2001) wurde gezeigt, dass ein niedriger Hemmkörpertiter zu Therapiebeginn einen signifikanten Einfluss auf den Therapieerfolg und Therapiedauer ausübt. Jedoch wurden in diesen Studien High- und Low-Responder nicht separat betrachtet.

Führt man die Unterscheidung in High- und Low-Responder im Gesamtkollektiv des Bonner Hämophilie-Zentrums nicht durch, so kann der positive Zusammenhang zwischen dem Hemmkörper-Titer zu Therapiebeginn und der Therapiedauer in diesem Gesamtkollektiv auch festgestellt werden ( $p = 0,01$ ), jedoch findet sich kein Zu-

sammenhang zwischen dem Hemmkörper-Titer zu Therapiebeginn und dem Therapieerfolg ( $p = 0,146$ ).

Die Ergebnisse dieser Studie zu den Analysen des Booster-Effekts müssen unter dem Gesichtspunkt betrachtet werden, wie die Boosterung in dieser Arbeit berechnet wurde: Der Booster-Effekt stellt die Differenz zwischen dem Hemmkörperspitzen-Spiegel und dem Hemmkörper-Titer zu Therapiebeginn dar. Somit stehen der Booster-Effekt und der Hemmkörperspitzen-Spiegel in direkter Beziehung. Dies erklärt, wieso die selben Zusammenhänge für die Parameter „Booster-Effekt“ und „Hemmkörperspitzen-Spiegel“ bzgl. Therapiedauer und Therapieerfolg gefunden wurden. Hierbei sind 92,6 % der Patienten mit einer Boosterung  $< 50$  BE erfolgreich verlaufen, jedoch konnten nur 46 % der Patienten mit einer Boosterung  $> 50$  BE die Therapie erfolgreich abschließen. Unter statistischer Analyse lassen sich bei der Verwendung des Booster-Effekts, im Vergleich zur Verwendung des Hemmkörper-Spitzen-Spiegels, noch signifikantere Ergebnisse errechnen. Somit besteht in dieser Studie ein noch engerer Zusammenhang zwischen dem Booster-Effekt und dem Therapieverlauf als es für den Hemmkörperspitzen-Spiegel festgestellt werden konnte. Dieser Unterschied in den Irrtumswahrscheinlichkeiten zwischen dem Booster-Effekt und Hemmkörperspitzen-Spiegel ( $p$  [Booster] = 0,00027;  $p$  [HK-Peak] = 0,0041) lässt sich dadurch erklären, dass nicht jeder Patient mit einem hohen Hemmkörper-Spitzen-Spiegel auch einen hohen Booster-Effekt aufweist: In unserer Studie gibt es 24 Patienten, die einen relativ hohen Hemmkörpertiter zu Therapiebeginn aufweisen ( $\geq 10$  BE) und während der Therapie einen relativ geringen Booster-Effekt zeigen ( $< 25$  BE): Der durchschnittliche Hemmkörpertiter zu Therapiebeginn dieser 24 High-Responder liegt bei 165 BE, ihr durchschnittlicher Booster-Effekt beträgt jedoch durchschnittlich nur 14 BE. Bei diesen Patienten gibt es einen signifikanten Unterschied in der Höhe des Booster-Effekts verglichen mit dem Hemmkörperspitzen-Spiegel.

### 5.7 Die für die Hämophilie A verantwortlichen Mutationen

Es wurde berichtet, dass die Erfolgsrate der Immuntoleranztherapie von der Art der Mutation, die die Hämophilie verursacht, abhängig ist (Coppola et al., 2009). Demnach haben auch die Mutationen, die ein hohes Risiko für die Hemmkörperentwicklung darstellen, einen negativen prognostischen Einfluss auf den Erfolg und die Dauer der

Immuntoleranztherapie. Mutationen mit einem hohen Risiko für die Hemmkörperentwicklung sind die großen Deletionen, die Nonsense-Mutation und die Intron 22 Inversionen (Oldenburg et al., 2003). Große Mutationen führen zu einem stark veränderten bzw. fehlenden Faktor VIII Protein. Bisher ist man davon ausgegangen, dass der extern zugeführte Faktor VIII dem Immunsystem umso mehr als körperfremd erscheint, desto stärker das endogen gebildete Faktor VIII Protein verändert ist und so das Immunsystem auch stärker auf das substituierte körperfremde Protein reagiert. Dies soll die erhöhte Inzidenz der Hemmkörperentwicklung von Hämophilie-Patienten mit Hoch-Risiko-Mutationen erklären (Schwaab et al., 1995).

In der Subgruppe der High-Responder des Bonner Hämophilie-Zentrums konnte jedoch kein signifikanter Einfluss der einzelnen Genmutationen auf den Therapieerfolg festgestellt werden. In unserer Studie haben 40 High-Responder eine Mutation, bei der es zu keiner endogenen Faktor VIII Produktion kommt (große Deletion, Stopp-Mutationen, Intron 22 und Intron 1 Inversionen), von denen sind 28 erfolgreich und 12 nicht erfolgreich verlaufen. Von den 8 Patienten mit einer Mutation mit niedrigem Hemmkörperrisiko bzw. mit einer restlichen endogenen Faktor VIII Bildung, sind 7 Patienten erfolgreich und ein Patienten nicht erfolgreich verlaufen. Die Verteilung von erfolgreichen und nicht erfolgreichen Patienten zeigt bei dieser geringen Patientenzahl keinen signifikanten Unterschied in diesen zwei Mutationsgruppen.

Bezüglich der Therapiedauer, ließ sich in der Subgruppe der erfolgreichen High-Responder, genauso wie in der Subgruppe der Low-Responder keinen Einfluss der einzelnen Mutationen bzw. der Mutationsart auf die Therapiedauer feststellen. Die Analysen wurden jeweils separat in den Patientengruppen mit Therapiebeginn vor bzw. ab 1990 durchgeführt. Auch die Mutationen, die eine gewisse restliche endogene Faktor VIII Produktion erlauben, konnten sich prognostisch nicht als vorteilhaft, im Vergleich zu den Mutationen ohne eine restliche endogene Faktor VIII Produktion, erweisen. Somit stehen die Ergebnisse dieser Studie im gewissen Widerspruch zu den Aussagen von Coppola et al. (2009). Jedoch ist zu beachten, dass für diese Fragestellung in unserer Studie nur eine geringe Patientenzahl zur Verfügung steht.

Es bedarf weiterer prospektiver Studien, um den prognostischen Einfluss der Faktor VIII Mutation auf den Verlauf der Immuntoleranztherapie zu klären.

## 5.8 Blutungen während der Immuntoleranztherapie

Das Kernmerkmal der Hämophilie-Erkrankung ist die Blutung. Unter den Hämophilie-Erkrankten sind die Hemmkörperpatienten besonders prädisponiert für das Auftreten von Blutungen (Astermark et al., 2003). Durch ein hochdosiertes Therapieprotokoll im Rahmen der Immuntoleranztherapie kann das Auftreten von Blutungen reduziert werden (Astermark, 2011). Der Einfluss des Therapie-Schemas auf die Blutungsinzidenz wurde auch in der prospektiven randomisierten „International Immune Tolerance Study“ (Hay und DiMichele, 2012) analysiert: Hierbei wurden Hemmkörper-Patienten mit einem hochdosierten (200 E/kg Körpergewicht/d) und einem niedrig-dosierten (50 E/kg Körpergewicht 3 mal pro Woche) Therapieschema behandelt und bzgl. der Blutungsinzidenz verglichen. Hierbei musste die Studie Anfang 2010 abgebrochen werden, weil es bei den Patienten mit dem niedrig dosierten Therapieprotokoll signifikant häufiger zu Blutungen kam ( $p = 0,0023$ ). Somit kann man den hochdosierten Therapieprotokollen (wie z.B. dem Bonn Protokoll) einen protektiven Effekt für Blutungen zuschreiben.

Die High-Responder des Bonner Patientenkollektives zeigen durchschnittlich 0,914 Blutungen pro Jahr, hierin konnte interessanterweise kein signifikanter Unterschied zu den Low-Respondern mit 1,189 Blutungen pro Jahr festgestellt werden. 75 % der Blutungen fanden während der ersten Phase der Immuntoleranztherapie statt (t2: Von Beginn der ITT bis zur ersten Dosisreduktion). Die Ergebnisse der prospektiven randomisierten „International Immune Tolerance Induction Study“ (Hay und DiMichele, 2012) zeigt, dass die meisten Blutungen während des Zeitraums auftreten, in dem der Hemmkörper noch deutlich nachweisbar ist. Dies entspricht ungefähr dem von uns definierten t2-Zeitraum, also von Therapiebeginn bis zur ersten Dosisreduktion. In dieser Zeitphase ist der Hemmkörper noch so hoch, dass die Faktor-VIII Substitution nur einen geringeren Schutz vor Blutungen leisten kann. In der zweiten Therapiephase (t3: Ab der ersten Dosisreduktion bis zum Therapieende) ist der Hemmkörpertiter soweit gesenkt worden, dass die Faktor-VIII Substitution zu einer Restaktivität an Faktor VIII führt, wodurch die in dieser Therapiephase geringere Blutungsinzidenz erklärbar ist.



In unserer Studie konnte gezeigt werden, dass das Auftreten schwerer Blutungen einen negativen Einfluss auf den Therapieerfolg ausüben kann: Besonders der Vergleich der Erfolgsquote zwischen jenen Patienten mit keiner bzw. mehr als einer Blutung zeigte, dass Blutungen den Erfolg der ITT gefährden können. Ähnlich wie bei dem Einflussparameter „Compliance“ entsteht hier der Eindruck, dass Blutungen während der Immuntoleranztherapie den Erfolg nach dem „Alles-oder-Nichts“ Prinzip beeinflussen: Treten während der Immuntoleranztherapie keine Blutungen auf, resultiert eine hohe Erfolgsquote (91 % unter den High-Respondern). Sobald eine oder mehrere Blutungen auftreten, ist mit einer niedrigeren Erfolgsquote zu rechnen: So stellte sich unter den High-Respondern mit nur einer Blutung eine 70 %ige Erfolgsquote heraus, sobald zwei oder mehr Blutungen auftreten, liegt die Erfolgsquote nur noch bei 44 %. Einen signifikanten Einfluss der Anzahl schwerer Blutungen auf die Dauer der Therapie konnte jedoch in unserer Arbeit nicht festgestellt werden.

Der Grund, weshalb Blutungen einen Einfluss auf die Immuntoleranztherapie ausüben könnten, ist die Tatsache, dass jede größere Blutung mit einer entsprechenden Entzündung und der Erhöhung immunmodulatorischer Zytokine einhergeht (Valentino et al., 2008; Van Meegeren, 2010). Diese Entzündung wiederum hält das Immunsystem in einem aktivierten Zustand. Dies könnte eine Erklärung dafür sein, wieso das Auftreten von Blutungen den Verlauf der Immuntoleranztherapie negativ beeinflusst.

Die Blutungsinzidenz von High- und Low-Respondern während der Immuntoleranztherapie und der Einfluss dieser Blutungen auf den Erfolg und die Dauer der Therapie wurden bisher in der Fachliteratur noch nicht systematisch analysiert (DiMichelle, 2007). Aus unseren Ergebnissen lässt sich jedoch schließen, dass das Auftreten von schweren Blutungen besonders während der Immuntoleranztherapie vermieden werden sollte. Blutungen können nicht nur zur Entstehung einer chronischen Synovitis und damit einem „target joint“ mit der Langzeitfolge einer hämophilen Arthropathie führen (Valentino et al., 2008), sondern diese Blutungen gefährden auch den Erfolg der Immuntoleranztherapie. Bestehen klinische Anzeichen einer stattfindenden Blutung, so sollte diese Komplikation so schnell wie möglich dem Hämophilie-Zentrum mitgeteilt und nach deren Empfehlung behandelt werden. Hierfür sind zusätzliche Substitutionen von Bypassing-Produkten, eine zeitlich begrenzte Ruhigstellung und

Kühlung zu empfehlen. Durch einen gut ausgebildeten Muskel-Band-Apparat sollten Blutungen präventiv verhindert werden. Bei kleinen Kindern kann unter bestimmten Umständen die Verwendung von Knie- und Ellenbogenschonern hilfreich sein.

### 5.9 Das intravasale Kathetersystem

Unterbrechungen in der regelmäßigen Faktor VIII Applikation scheinen den Therapieverlauf negativ zu beeinflussen (vgl. Abschnitt 5.3). Somit ist die Indikation für ein intravasales Kathetersystem (Port-A-Caths<sup>®</sup>, Sheldon- oder Broviac-Katheter) gegeben, wenn die regelmäßige Faktor VIII Substitution auf anderem Wege nicht gewährleistet werden kann. Die Implantation eines intravasalen Kathetersystems geht jedoch mit der Gefahr einher, dass sich dieses System im Laufe der Immuntoleranztherapie infiziert.

In der Arbeit von Mancuso et al. (2008), konnte bei hämophilen Kindern gezeigt werden, dass die Infektionsrate eines Kathetersystems stark von der Häufigkeit dessen Gebrauchs abhängig ist: Patienten, die das intravasale Kathetersystem einmal oder mehrmals am Tag verwenden, zeigen durchschnittlich eine signifikant kürzere infektionsfreie Zeit im Vergleich zu den Patienten mit einer selteneren Verwendung des Kathetersystems. Da im Rahmen des „Bonn Protokolls“ eine zweimal tägliche Faktor VIII Applikation gefordert und somit das intravasale Kathetersystem stark beansprucht wird, ist die Infektion dieses Kathetersystems eine Komplikation, die häufig beobachtet werden kann. In unserem Patientenkollektiv kam es bei 43,3 % zu einer Infektion des Kathetersystems. Die Infektionsrate im Bonner Patientenkollektiv entspricht etwa der Rate, die in der Literatur angegeben wird (Damiano und Hutter, 2000: 63 %; DiMichele und Hay, 2006: 36 %; Van Den Berg et al., 1998: 50-80 %).

Es ist bekannt, dass jede Form einer Entzündung während der Immuntoleranztherapie zu einem Anstieg des Hemmkörpertiters führen kann. Diese Entzündung aktiviert das Immunsystem, was einen Einfluss auf die Immuntoleranztherapie ausübt.

In dieser Arbeit wurde die Frage gestellt, ob dieses intravasale Kathetersystem bzw. dessen Infektion den Verlauf der Immuntoleranztherapie negativ beeinflusst. Bei der kleinen Patientenzahl, die für diese Fragestellung für die Auswertung zu Verfügung stand, konnte kein signifikanter Unterschied in der Erfolgsquote zwischen den

Patienten ohne ein intravasales Kathetersystem und den Patienten mit einem infizierten bzw. nicht infizierten intravasalen Kathetersystem festgestellt werden.

Trotz der kleinen Patientenzahl, die für die Auswertung dieser Fragestellung zur Verfügung stand, konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Therapiedauer und dem Vorhandensein bzw. der Infektion des Kathetersystems festgestellt werden: In der Subgruppe der erfolgreichen High-Responder ohne Unterbrechung des hochdosierten Therapieprotokolls zeigten die Patienten die kürzeste Therapiedauer, die kein intravasales Kathetersystem benötigten. Patienten mit einem nicht infizierten Kathetersystem zeigten im Vergleich dazu eine durchschnittlich längere Therapiedauer (666 Tage ohne intravasales Kathetersystem im Vergleich zu 830 Tagen bei High-Respondern mit einem nicht-infizierten intravasalem Kathetersystem). Mit dem Auftreten einer Infektion des intravasalen Kathetersystems konnte dann noch eine weitere Verlängerung der Therapiedauer festgestellt werden (1546 Tage).

Obwohl die Zwischenergebnisse der „International Immune Tolerance study“ auf einen negativen Zusammenhang zwischen dem (infizierten) intravasalen Kathetersystem und dem Erfolg und der Dauer der Immuntoleranztherapie hinwiesen (DiMichele und Hay, 2006), konnte abschließend in dieser Studie kein signifikanter Einfluss der Katheterinfektionen auf die Therapiedauer und den Therapieerfolg festgestellt werden (Hay und DiMichele, 2012). Es ist jedoch zu beachten, dass in diese Studie nur Patienten mit einer guten Prognose bzw. mit einem günstigen Risikoprofil eingeschlossen wurden. Im spanischen Register konnte die Verwendung eines intravasalen Kathetersystems bzw. dessen Infektion als ein negativer Einflussparameter auf den Therapieerfolg festgestellt werden (Haya et al., 2001; Haya et al., 2007).

Somit stellen die Ergebnisse dieser Arbeit ein Indiz für den negativen Einfluss eines intravasalen Kathetersystems auf den Verlauf der Immuntoleranztherapie dar. Es lässt sich jedoch durch den metaanalytischen Vergleich der existierenden Studien der Einfluss eines Kathetersystems bzw. dessen Infektion auf den Therapieerfolg bzw. die Therapiedauer nicht eindeutig beantworten. Eine Alternative zum intravasalen Kathetersystem ist die chirurgische Anlage einer arteriovenösen Fistel, womit die täglichen Gefäßpunktionen im Rahmen der ärztlich kontrollierten Selbstbehandlung gewährleistet werden können (Santagostino et al., 2003).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Verwendung eines intravasalen Kathetersystems während der Immuntoleranztherapie nur als letzte Möglichkeit in Erwägung gezogen werden sollte, wenn die 12-stündliche Applikation des Faktor VIII Präparats auf einem anderen Wege nicht mehr zu realisieren ist. Die Patienten bzw. die Eltern der Kinder müssen genauestens in den sterilen Umgang mit dem intravasalen Kathetersystem eingewiesen werden, um die Komplikation einer Infektion zu vermeiden, was die Dauer der Therapie wiederum verlängern könnte.

#### 5.10 Anzahl Krankenhausaufenthalte

Von jedem Patienten in dieser Studie wurde bestimmt, wie häufig es zu einer stationären Aufnahme während der Immuntoleranztherapie gekommen ist. Rehabilitative Behandlungen und die stationäre Erlernung der Heimselbstbehandlung wurden nicht als ein stationärer Aufenthalt gewertet. Die Anzahl der Krankenhausaufenthalte ist somit ein Maß für die Anzahl an schweren Komplikationen während der Immuntoleranztherapie, die einer stationären Behandlung bedürfen. Die Analyse unserer erhobenen Daten ergab, dass die absolute Anzahl stationärer Aufenthalte, genauso wie die Anzahl stationärer Aufenthalte pro Jahr, in der Subgruppe der High-Responder keinen signifikanten Einfluss auf den Therapieerfolg ausübt. Es ließ sich jedoch eine signifikant längere Therapiedauer bei jenen High-Respondern feststellen, die während ihrer Immuntoleranztherapie auf Grund von Komplikationen häufiger ins Krankenhaus mussten. Umso häufiger ein Patient stationär behandelt werden musste, desto länger ist der Therapieverlauf. So liegt der Median der Therapiedauer bei jenen High-Respondern ohne einen stationären Aufenthalt bei 424 Tagen, bei nur einer stationären Behandlung bei 583 Tagen, 719 Tage bei zwei und 1299 Tage bei drei bzw. mehreren stationären Aufenthalten. Einen solchen Einfluss auf die Therapiedauer konnte jedoch bei den Low-Respondern nicht beobachtet werden. Wie auch schon bei den Bypassing-Produkten als indirekten Parameter für Komplikationen während der ITT beobachtet werden konnte, scheinen für die Immuntoleranztherapie von Low-Respondern andere Gesetzmäßigkeiten zu gelten. Low-Responder haben an sich eine sehr gute Prognose, wodurch sie weitaus toleranter für externe negative Einflüsse zu sein scheinen. Um eine Erklärung zu finden, wieso stationäre Aufenthalte während der Immuntoleranztherapie einen negativen Einfluss auf die Therapiedauer

ausüben, müssen die Ursachen der stationären Einweisung betrachtet werden: Wie in Abschnitt 5.8 gezeigt werden konnte, stellen Blutungen während der ITT einen negativen Einflussparameter dar. Operationen können zu einem Abweichen des konstanten Therapieschemas zwingen, wodurch der Hemmkörpertiter wieder in die Höhe getrieben werden kann. Auch Probleme mit dem intravasalen Kathetersystem, wie z.B. Dislokation, Thrombosierungen, Port-Einblutungen und Infektionen, führen zu einer stationären Behandlung. In Abschnitt 5.9 konnte gezeigt werden, dass die intravasalen Kathetersysteme selbst und deren Infektionen die benötigte Therapie-dauer verlängern können. In der Fachliteratur ist die Anzahl an stationären Auf-enthalten während der Immuntoleranztherapie, als Prädiktor für den Erfolg und die Dauer der ITT, noch nicht systematisch analysiert worden. Unsere Ergebnisse legen jedoch nahe, jede Form von Komplikation, wie z.B. Blutungen und Operationen während der Immuntoleranztherapie, soweit es möglich ist, zu vermeiden.

#### 5.11 Der Einsatz von Bypassing-Produkten während der Immuntoleranztherapie

Bypassing-Produkte wie FEIBA oder NovoSeven werden im Rahmen der Immuntoleranztherapie entweder als Blutungsprophylaxe parallel zur Faktor VIII Substitution, oder zur Behandlung von aufgetretenen Blutungen („on demand“) eingesetzt (Konkle et al., 2007; Leissinger et al., 2007). Besonders zu Beginn der Immuntoleranztherapie, kann auf Grund eines hohen Hemmkörpertiters mit Hilfe der Faktor VIII Substitutionen keine genügend hohe hämostatische Aktivität erreicht werden. Der besondere Stellenwert der Bypassing-Produkte für die Immuntoleranztherapie liegt daher in der Tatsache, dass diese Produkte nicht von dem Hemmkörper neutralisiert werden und so auf anderem Wege die Gerinnungskaskade aktiviert werden kann.

In dieser Arbeit wurde der Frage nachgegangen, ob die Patienten, die während ihrer Immuntoleranztherapie auf den Gebrauch von Bypassing-Produkten angewiesen waren, sich in der Erfolgsrate und Dauer der Immuntoleranztherapie von jenen Patienten unterscheiden, die während ihrer Immuntoleranztherapie keine Bypassing-Produkte benötigt haben. Hierbei konnte in dieser Studie festgestellt werden, dass in der Subgruppe der High-Responder die Patienten ohne die Verwendung von FEIBA oder NovoSeven signifikant häufiger die Immuntoleranztherapie erfolgreich abschließen konnten (hier liegt die Erfolgsquote bei 89 % für die Patienten ohne die

Verwendung von FEIBA und 78 % für die Patienten ohne den Gebrauch von NovoSeven) als die Patienten, die während der ITT auf diese Bypassing-Produkte angewiesen waren (die Erfolgsquote liegt hier bei 60 % für das FEIBA und 25 % für das NovoSeven). Desweiteren dauerte es bei den erfolgreichen High-Respondern mit Verwendung von FEIBA signifikanter länger bis zum Therapieerfolg (durchschnittlich 981 Tage) im Vergleich zu jenen High-Respondern, die während ihrer ITT keine Bypassing-Produkte erhalten haben (durchschnittlich 535 Tage). Bei den Low-Respondern lässt sich jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Verwendung von Bypassing-Produkten und der Dauer der Immuntoleranztherapie feststellen.

Nun könnte man aus diesen Ergebnissen ableiten, dass Bypassing-Produkte selbst einen negativen Einfluss auf die Immuntoleranztherapie ausüben. Obwohl das FEIBA eine gewisse Restmenge an Faktor VIII enthält und so auch zu einem gewissen Anstieg des Hemmkörpers führen kann (sog. „anamnestic response“) (Négrier et al., 1997), lässt sich dieser Zusammenhang zwischen der Verwendung der Bypassing-Produkte und einer längeren Therapiedauer bzw. geringeren Erfolgsquote nicht dem FEIBA selbst zuschreiben. Der Zusammenhang zwischen einer geringeren Erfolgsquote und längeren Therapiedauer lässt sich bei NovoSeven noch deutlicher erkennen, obwohl bei diesem rekombinanten aktivierten Faktor VII keine „anamnestic response“ auftritt (Hay, 1998). Die Verwendung von Bypassing-Produkten spiegelt indirekt wieder, ob es während der Immuntoleranztherapie zu Komplikationen wie Blutungen und Operationen gekommen ist. Wie in Abschnitt 5.8 und 5.10 gezeigt wurde, stellen diese Komplikationen einen negativen Einfluss auf die Immuntoleranztherapie dar, wodurch der Zusammenhang zwischen der Verwendung von Bypassing-Produkten und dem negativen Verlauf der Immuntoleranztherapie zu erklären ist. Bei Low-Respondern hat es den Anschein, dass Komplikationen während der ITT einen geringeren Einfluss auf den Erfolg und die Dauer der Therapie auszuüben. In der Fachliteratur sind bisher keine Studien veröffentlicht worden, in denen der Zusammenhang zwischen der Verwendung von Bypassing-Produkten während der Immuntoleranztherapie und der Therapiedauer bzw. dem Therapieerfolg systematisch untersucht worden ist. In dieser Studie konnte auch gezeigt werden, dass High-Responder deutlich häufiger auf den Gebrauch von FEIBA angewiesen sind als Low-

Responder. Dieses Ergebnis war zu erwarten, da bei Low-Respondern durch die regelmäßigen Substitutionen eine Restaktivität des Faktor VIII erreicht werden kann und so ein gewisser Schutz vor Blutungen besteht, was die Verwendung von FEIBA entbehrlich macht. Jedoch konnte innerhalb der Subgruppen der Low- und High-Responder kein signifikanter Unterschied in der Höhe des Hemmkörperspitzen spiegels bei Patienten mit bzw. ohne Verwendung von FEIBA festgestellt werden. Dies zeigt, dass die Entscheidung für den zusätzlichen Einsatz von FEIBA im Bonner Hämophilie-Zentrum nicht alleine von der Höhe des Hemmkörper-Titers abhängig gemacht wird. Viele Parameter, wie z.B. das Auftreten einer Blutung, ein chirurgischer Eingriff, laborchemische Parameter wie die Recovery und die klinische Situation des Patienten werden für diese Entscheidung berücksichtigt.

#### 5.12 Der Therapieerfolg und die Therapiedauer im Bonner Hämophilie-Zentrum vor und ab 1990

Bei der Auswertung der für diese Studie erhobenen Daten, stellte sich bzgl. der Therapiedauer ein Unterschied zwischen den Patienten mit Therapiebeginn vor 1990 und den Patienten mit dem Beginn der Therapie ab 1990 heraus. High-Responder mit dem Therapiebeginn vor 1990 zeigten eine grenzwertig signifikant kürzere (vor 1990: durchschnittlich 613 Tage; Therapiebeginn nach 1990: durchschnittlich 936 Tage) und Low-Responder mit Therapiebeginn vor 1990 eine signifikant kürzere Therapiedauer (302 Tage im Vergleich zu 730 Tage). Interessanterweise wurde auch von Kreuz et al. (2003) in einer zentrumsinternen longitudinalen Studie von einem Einbruch der Therapieeffizienz zu Beginn der 1990er Jahre berichtet. Die Ursache dafür wurde der Einführung neuer hochgereinigter bzw. rekombinanter Präparate zugeschrieben. Auch in der retrospektiven Studie von Auerswald et al. (2003) konnte, nach Zusammenschluss der Bonner und Bremer Hämophilie-Patienten, eine signifikant schlechtere Erfolgsrate bei den Patienten mit Therapiebeginn nach 1990 festgestellt werden. Es ist nicht auszuschließen, dass sich ein ähnlicher Unterschied in der Therapieeffizienz bei Patienten mit Therapiebeginn vor bzw. ab 1990 auch in anderen Hämophilie-Zentren finden lässt, dieser jedoch auf Grund zu geringer Patientenzahlen noch nicht aufgefallen ist. Die Ergebnisse dieser Arbeit führen zu der Frage, wieso trotz des enormen Informationszugewinns der letzten 30 Jahre und den großen Fortschritten in

der Therapie der Hämophilie-Erkrankung (Oldenburg et al., 2009), die Immuntoleranztherapie bzgl. der Therapiedauer seit 1990 an Effektivität verloren hat. Diese Frage ist nicht nur für das interne Qualitätsmanagement des Bonner Hämophilie-Zentrum interessant, sondern auf diese Weise ist es evtl. auch möglich, negative und positive Einflussfaktoren für die Dauer der Immuntoleranztherapie herauszustellen.

Zur Klärung dieser Frage ist es hilfreich zu analysieren, in welchen Parametern sich die Gruppe mit Therapiebeginn vor 1990 von der Gruppe mit dem Beginn der Therapie nach 1990 unterscheidet. Diesbezüglich können folgende Feststellungen gemacht werden: In diesen zwei Zeitabschnitten wurden unterschiedliche Faktor VIII Präparate verwendet, die sich bzgl. der Reinheit, des vWF-Gehaltes, der Herstellungsmethoden (plasmatisch oder rekombinant) und der Begleitstoffe unterscheiden. 97 % der HIV-positiven, 84,4 % der Hepatitis B-positiven und 71 % der Hepatitis C-positiven Patienten hatten ihren Therapiebeginn vor dem Jahre 1990. Unter den Patienten, die vor oder während der ITT nicht gegen Hepatitis B geimpft wurden, hatten 83,3 % ihren Therapiebeginn vor 1990. Das durchschnittliche Alter der Patienten zu Beginn der Therapie lässt auch einen signifikanten Unterschied erkennen: Das Durchschnittsalter zu Therapiebeginn bei den Patienten mit einem Therapiestart vor 1990 liegt bei 16,2 Jahren, bei den Patienten mit Therapiebeginn nach 1990 bei durchschnittlich 7,3 Jahren. Auch das intravasale Kathetersystem könnte zur ungleichen Therapiedauer in diesen zwei Zeitabschnitten beitragen, da diese intravasalen Kathetersysteme erst ab 1990 bei den Patienten des Bonner Gesamtkollektives zum Einsatz kamen (vergleiche Abschnitt 5.9). Somit können auch Infektionen des intravasalen Kathetersystems nur nach 1990 stattgefunden haben.

Auch diverse Umweltfaktoren wie die Ernährung, Umweltschadstoffe, die soziale Situation, eine verstärkte Hygiene u.v.m. könnten zum unterschiedlichen Verlauf der Immuntoleranztherapie bei Patienten mit Therapiebeginn vor und ab 1990 beitragen.



### 5.13 Hepatitis B, Hepatitis C, HIV und Hepatitis-B-Impfung während der Immuntoleranztherapie

Die Übertragung des HI-, Hepatitis B und Hepatitis C Virus erfolgte durch kontaminierte Blutprodukte und Faktor VIII Präparate zu Beginn der 1980er Jahre. Die Prävalenz dieser drei Virus-Infektionen unter den Patienten, die im Bonner Hämophilie-Zentrum eine Immuntoleranztherapie erhalten haben, liegt jeweils ungefähr bei einem Drittel (HIV: 27,1 %; HBV: 38,1 %; HCV: 32,2 %). 56 % der Patienten des Bonner Gesamtkollektives sind vor oder während der Immuntoleranztherapie geimpft worden. Diese Zahlen stellen eine Momentaufnahme im Mai 2009 dar. Seit der Einführung der Virus-Hitzeinaktivierung und den hochsensitiven Screening-Tests, ist es seit 1987 zu keiner Übertragung dieser Krankheitserreger über die Faktor VIII-Präparate mehr gekommen (Tabor, 1999). Deshalb führt es zu einer „Verdünnung“ der Prävalenzzahlen für die Infektion mit diesen Viren, umso mehr Patienten der „jüngeren“ Generation in die Studie mit eingeschlossen werden. So ließ sich zu Beginn der 1980er Jahre eine deutlich höhere Prävalenz dieser Viren bei den Hämophilie Patienten feststellen (Troisi et al., 1993). Man muss beachten, dass eine ungleiche Verteilung dieser Parameter für Patienten mit Therapiebeginn vor 1990 und nach 1990 (vgl. Abschnitt 5.12) besteht.

In dieser Arbeit haben wir die Frage gestellt, ob das Vorliegen einer Hepatitis-B-, Hepatitis-C- oder HIV-Infektion, die Erfolgsquote der Immuntoleranztherapie beeinflusst, da diese Viren einen starken Einfluss auf das Immunsystem und den gesamten Organismus ausüben (z.B. die Immuninsuffizienz bei HIV positiven Patienten, oder die chronischen Entzündungsvorgänge in der Leber durch die Hepatitis-Viren). Die Ergebnisse unserer Arbeit konnten keinen signifikanten Einfluss dieser Viren und auch nicht der Hepatitis-B-Impfung auf den Therapieerfolg zeigen. Auch DiMichele und Kroner (1999) konnten keinen signifikanten Einfluss der HIV Infektion auf den Therapieerfolg feststellen. Studien zum Einfluss einer Hepatitis-B oder Hepatitis-C Infektion auf die Dauer und den Erfolg der Immuntoleranztherapie wurden in der Fachliteratur noch nicht publiziert.

Impfungen während der Immuntoleranztherapie könnten einen Einfluss auf den Verlauf der Immuntoleranztherapie ausüben, da durch eine aktive Impfung (wie z.B. bei dem

Hepatitis-B-Impfstoff) das Immunsystem aktiviert und zur Antikörperbildung angeregt wird. In der Fachliteratur werden Impfungen während oder vor der ITT nur als ein möglicher Einflussparameter angesprochen, dessen Einfluss bisher noch nicht geklärt ist (Hoots, 2006).

Für die statistische Analyse des Einflusses dieser vier Parameter auf die Therapiedauer, wurden die Patienten mit Therapiebeginn vor bzw. ab 1990 separat betrachtet. Hier konnte in der Gruppe der High- und Low-Responder kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Therapiedauer und dem Vorhandensein einer Hepatitis-B-, Hepatitis-C-, oder HIV-Infektion festgestellt werden. In der Gruppe der High-Responder, nicht jedoch in der Gruppe der Low-Responder, konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Hepatitis-B-Impfung und der Therapiedauer festgestellt werden, wobei jene Patienten, die vor oder während der Immuntoleranztherapie die Impfung erhalten haben, eine signifikant längere Zeit benötigten (durchschnittlich 1047 Tage im Vergleich zu den nicht gegen Hepatitis B Geimpften mit 312 Tagen), bis ihre Therapie als erfolgreich bezeichnet werden konnte.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse dieser Studie es nahe legen, dass der Serostatus von HIV, Hepatitis C und Hepatitis B keinen signifikanten Einfluss auf den Verlauf der Immuntoleranztherapie ausübt. Letztendlich lässt es sich aber nicht 100 %ig ausschließen, dass die unterschiedliche Therapiedauer zwischen den Patienten mit Therapiebeginn vor bzw. ab 1990 doch durch die Fehlverteilung von HIV-, Hepatitis B- und Hepatitis C-positiven Patienten in diesen zwei Gruppen zu Stande kommt. Es gibt jedoch gewisse Hinweise, dass die Hepatitis-B-Impfung vor und während der Immuntoleranztherapie die Dauer der ITT verlängern könnte. Die behandelnden Ärzte sollten das Risiko einer Infektion mit dem Hepatitis B Virus und der potentiellen Verlängerung der Immuntoleranztherapie gegeneinander abwägen. Um eine generelle Empfehlung für den Zeitpunkt der Hepatitis-B-Impfung bei Hemmkörper-Patienten zu formulieren, werden jedoch größere und evtl. prospektive Studien benötigt.

#### 5.14 Das Alter zu Beginn der Immuntoleranztherapie

Das Alter zu Therapiebeginn stellt einen nur gering beeinflussbaren Parameter der Immuntoleranztherapie dar. Gewisse Aspekte sind bzgl. des Alters zu Therapiebeginn zu beachten: Im Vergleich zu Jugendlichen bzw. Erwachsenen ergeben sich bei der Durchführung der Immuntoleranztherapie bei kleinen Kindern gewisse Besonderheiten, die die Therapie unter Umständen erschweren können: Die zweimal tägliche Faktor VIII Substitution stellt auf Grund der schwierigeren Venensituation bei Kindern eine Herausforderung dar, was unter Umständen die Verwendung eines intravasalen Kathetersystems notwendig macht (vgl. Abschnitt 5.9). Bei motorisch sehr aktiven Kindern kann es im Rahmen des physiologischen Bewegungsdrangs zu vermehrten traumatisch bedingten Blutungen kommen. Desweiteren sind die Therapeuten und die Eltern der Kinder in vielen Bereichen auf die Mitarbeit (Compliance) der Kinder angewiesen, jedoch stellt sich dies häufig als problematisch dar, da es schwierig ist, kleinen Kinder die Notwendigkeit der Durchführung der Immuntoleranztherapie verständlich zu machen. Jedoch ist auch zu beachten, dass sich bei Kindern das Immunsystem noch in der Entwicklung befindet und sich in seiner qualitativen und quantitativen Funktion von dem Immunsystem der Erwachsenen unterscheidet (Holt und Jones, 2000) was evtl. einen Einfluss auf die biologische Suszeptibilität zur Erlangung einer immunologischen Toleranz für das extern zugeführt Faktor VIII Protein ausübt.

Mariani et al. (2001) stellten einen Zusammenhang zwischen der Erfolgsquote und dem Alter der Patienten zu Therapiebeginn dar: Hierbei nimmt die Erfolgsquote sukzessiv mit dem zunehmenden Alter ab. Im Gegensatz hierzu wurde in der Arbeit von Haya et al. (2001) ein Trend beobachtet, der den älteren Patienten einen besseren Therapieverlauf zuschreibt. Im Nordamerikanischen Immuntoleranz Register (DiMichele, 2009) und in der Studie von Rocino et al. (2001) konnte kein signifikanter Einfluss des Alters zu Therapiebeginn auf den Therapieerfolg bzw. die Therapiedauer festgestellt werden. Somit besteht in der Fachliteratur Uneinigkeit über diesen eventuellen Einflussparameter der Immuntoleranztherapie. In unserer Studie wurde anfangs ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Alter zu Therapiebeginn und der Dauer der ITT erkannt, wobei hier ältere Patienten eine kürzere Therapiedauer

zeigten. Nach genauerer Analyse der Daten konnte jedoch festgestellt werden, dass die ITT von Patienten mit einem höheren Alter zu Therapiebeginn meist im Zeitraum vor 1990 begonnen wurde (vgl. Abschnitt 5.12). Die Analyse wurde daher getrennt für die Patienten, mit Therapiebeginn im Zeitraum vor 1990 und ab 1990 durchgeführt. Diese getrennte Analyse erbrachte keinen signifikanten Einfluss des Alters zu Therapiebeginn auf den Erfolg bzw. die Dauer der Immuntoleranztherapie. Auch die Unterscheidung zwischen Patienten mit einem jungen „unreifen“ Immunsystem im Vergleich zu älteren Patienten mit einem „reifen“ Immunsystem zeigte keine Unterschiede in der Therapiedauer.

### 5.15 Multivariate Analyse der Einflussparameter

Die multivariate Analyse bietet die Möglichkeit jene Einflussparameter herauszufiltern, die eigenständig die Zielgrößen dieser Arbeit (Therapieerfolg und Therapiedauer) vorhersagen und somit unabhängig von den anderen Analyseparametern sind. Unter den 56 High-Respondern zeigte sich als einziger unabhängiger Einflussparameter auf den Therapieerfolg die Höhe des Hemmkörpers. Hierbei wurden zwei Gruppen gebildet, die eine mit einem historischen Hemmkörpertiter größer, die andere Gruppe mit einem Hemmkörpertiter kleiner als 50 BE. Die Ergebnisse suggerieren, dass die Patienten, deren Hemmkörpertiter die Grenze von 50 BE nicht überschreiten, eine höhere Erfolgsquote aufweisen.

Die multivariate Analyse der 56 High-Responder deutet darauf hin, dass ein hoher vWF-Gehalt des FVIII-Produktes die Therapiedauer günstig beeinflusst. Die Verwendung von FEIBA und die Hepatitis-B-Impfung scheinen die Therapiedauer zu verlängern. Für die Subgruppe der 31 Low-Responder ergibt die multivariate Analyse mehrere, die Therapiedauer unabhängig beeinflusste Parameter: Den Hemmkörperspitzenpiegel, den Hemmkörpertiter zu Therapiebeginn, die Verwendung von NovoSeven, die Anzahl schwerer Blutungen während der ITT und der Parameter, ob die Therapie vor bzw. ab 1990 begonnen wurde. Kausale Zusammenhänge, die man aus den Ergebnissen dieser multivariaten Analyse ableiten könnte, müssen jedoch mit gewissen Einschränkungen interpretiert und betrachtet werden: Für eine aussagekräftige multifaktorielle Analyse werden je Analyseparameter ungefähr 50 Einzelwerte benötigt um eine entsprechende Teststärke (Power) zu erreichen. Für die statistische

Auswertung in der multivariaten Analyse standen für die High-Responder jedoch nur 56 und für die Low-Responder nur 31 Patienten zu Verfügung, die in den einzelnen Parametern jedoch nicht immer eine Ausprägung aufweisen. Entsprechend wurde versucht, die Größe der Subgruppen hoch zu halten, was jedoch dazu führt, dass die zu analysierende Gruppe an Heterogenität gewinnt: So wurden z.B. für die multivariate Analyse die High-Responder nicht entsprechend ihres Therapieprotokolls (Bonn Protokoll ohne Unterbrechung, Bonn Protokoll mit Unterbrechung, kein Bonn Protokoll) bzw. ihres Therapieerfolgs differenziert. Dies führt zu einer nur eingeschränkten Aussagekraft dieser multivariaten Analyse, jedoch ist festzustellen, dass sich die Ergebnisse der multivariaten Analyse in weiten Teilen mit den Aussagen der univariaten Analysen decken.

## 6. Zusammenfassung

Seitdem die Übertragung von viralen Erregern über Blutprodukte in der Hämophilie-Behandlung durch Hitze-Inaktivierung und strenge Kontrollen der Faktor VIII Präparate verhindert werden konnte, stellt die Ausbildung eines Hemmkörpers als Reaktion auf die Faktor VIII Substitution die schwerste Komplikation dar. Diese Komplikation ereignet sich bei 20-30 % aller Hämophilie-Patienten. Die hämostatische Wirkung des substituierten Faktor VIII Proteins wird durch diesen Hemmkörper schnell neutralisiert, wodurch die Patienten einem starken oft lebensbedrohlichen Blutungsrisiko ausgesetzt sind. Die Behandlung dieser Hemmkörper-Patienten ist noch immer eine Herausforderung für die Wissenschaft und die behandelnden Ärzte. Zur Behandlung bzw. längerfristigen Entfernung dieses Hemmkörpers, nimmt die von Dr. Brackmann empirisch entwickelte Immuntoleranztherapie nach dem Bonn Protokoll den größten Stellenwert ein. Sie stellt eine wirksame, aber auch belastende und kostspielige Therapie dar, die durch regelmäßige Faktor VIII Substitutionen mit hoher Effizienz zu einer dauerhaften Toleranz des extern verabreichten Faktor VIII führt. Diese retrospektive Studie zielt darauf ab, an Hand des Bonner Patientenkollektives, Einflussfaktoren für die Dauer und den Erfolg dieser Immuntoleranztherapie herauszufinden. Dafür wurden aus 1279 Hämophilie-A-Patienten 118 Hemmkörper-Patienten für die statistische Auswertung verwendet. Für die Auswertung wurde zwischen High- und Low-Respondern unterschieden und die Patienten entsprechend ihres Therapieprotokolls in Gruppen unterteilt. Einige Parameter mussten separat in dem Patientenkollektiv mit Therapiebeginn vor 1990 analysiert werden, da der Therapieverlauf vor 1990 sich vom Therapieverlauf ab 1990 durch z.B. unterschiedlich verwendete Faktor VIII Produkte unterscheidet. In diesen jeweils unterschiedlichen Gruppen zeigten sich diverse signifikante Einflussfaktoren auf den Erfolg bzw. Dauer einer Immuntoleranztherapie: So konnten z.B. der Hemmkörperspitzen Spiegel, die Anzahl der Blutungen während der Immuntoleranztherapie, und die Therapiecompliance als relevante Einflussparameter bezüglich des erfolgreichen Ausgangs einer Immuntoleranztherapie identifiziert werden. Als signifikante Einflussparameter der Behandlungsdauer konnten u.a. die Anzahl stationärer Klinikaufenthalte, die Art des Faktor VIII Präparates, die Verwendung eines intravasalen Kathetersystems und die Hepatitis B Impfung herausgefunden werden. Um letztendlich diese Ergebnisse zu verifizieren und evidenz-

basierte Empfehlungen zur optimierten Durchführung einer Immuntoleranztherapie aussprechen zu können, bedarf es größerer prospektiver Studien, deren Durchführung jedoch durch die geringe Prävalenz von Hämophilie A Patienten mit Hemmkörper erschwert wird. Für jene prospektive Studien kann diese retrospektive Arbeit eine hilfreiche Orientierung zur Auswahl der entsprechenden Analysefaktoren darstellen.

## 7. Literaturverzeichnis

Adkinson NF. Environmental influences on the immune system and allergic reactions. Environ Health Perspect 1977; 20: 97-103

Apostolou I, von Boehmer H. In vivo instruction of suppressor commitment in naive T cells. J Exp Med 2004; 199: 1401-1408

Astermark J. Immune tolerance induction in patients with hemophilia A. Thromb Res 2011; 127: 6-9

Astermark J, Berntorp E, White GC, Kroner BL, MIBS Study Group. The Malmö International Brother Study (MIBS): further support for genetic predisposition to inhibitor development in hemophilia patients. Haemophilia 2001; 7: 267-272

Astermark J, Oldenburg J, Carlson J, Pavlova A, Kavakli K, Berntorp E, Lefvert AK, MIBS Study Group. Polymorphisms in the TNFA gene and the risk of inhibitor development in patients with hemophilia A. Blood 2006 b; 108: 3739-3745

Astermark J, Oldenburg J, Escobar M, White GC 2nd, Berntorp E, Malmö International Brother Study study group. The Malmö International Brother Study (MIBS): Genetic defects and inhibitor development in siblings with severe hemophilia A. Haematologica 2005; 90: 924-931

Astermark J, Oldenburg J, Pavlova A, Berntorp E, Lefvert AK, MIBS Study Group. Polymorphisms in the IL10 but not in the IL1beta and IL4 genes are associated with inhibitor development in patients with hemophilia A. Blood 2006 a; 107: 3167-3172

Astermark J, Voorberg J, Lenk H, DiMichele DM, Shapiro A, Tjønnfjord G, Berntorp E. Impact of inhibitor epitope profile on the neutralizing effect against plasma-derived and recombinant factor VIII concentrates in vitro. Haemophilia 2003; 9: 567-572

Auerswald G, Bidlingmaier C, Kurnik K. Early prophylaxis/FVIII tolerization regimen that avoids immunological danger signals is still effective in minimizing FVIII inhibitor developments in previously untreated patients - long-term follow-up and continuing experience. Haemophilia 2012; 18: 18-20



Auerswald G, Spranger T, Brackmann HH. The role of plasma-derived factor VIII/von Willebrand factor concentrates in the treatment of hemophilia A patients. *Haematologica* 2003; 88: EREP05

Baxter Deutschland GmbH, 2010: Baxter Fachinformation FEIBA NF 1000 E. [http://www.baxter.de/downloads/fachinformation/feiba\\_nf\\_1000e.pdf](http://www.baxter.de/downloads/fachinformation/feiba_nf_1000e.pdf). (Zugriffsdatum: 28.11.2010)

Behrmann M, Pasi J, Saint-Remy JM, Kotitschke R, Kloft M. Von Willebrand factor modulates factor VIII immunogenicity: comparative study of different factor VIII concentrates in a haemophilia A mouse model. *Thromb Haemost* 2002; 88: 221-229

Brackmann HH, Effenberger W, Schwaab R, Hess L, Hanfland P, Oldenburg J. Quality management and quality assurance in haemophilia care: a model at the Bonn haemophilia centre. *Haemophilia* 2002; 8: 211-216

Brackmann HH, Eikhoff HJ, Oldenburg J, Hammerstein U. Long- Term therapy and On- Demand Treatment of Children and Adolescents with Severe Haemophilia A: 12 Years of experience. *Haemostasis* 1992; 22: 251-258

Brackmann HH, Gormsen J. Massive Factor-VIII Infusion in haemophiliac with factor-VIII inhibitor, high responder. *Lancet* 1977; 2: 933

Brackmann HH, Hofmann P, Etzel F, Egli H. Home care of hemophilia in West Germany. *Thromb Haemost* 1976; 35: 544-552

Brackmann HH, Lenk H, Scharrer I, Auerswald G, Kreuz W. German recommendations for immune tolerance therapy in type A haemophiliacs with antibodies. *Haemophilia* 1999; 5: 203-206

Brackmann HH, Oldenburg J, Schwaab R. Immune Tolerance for the Treatment of Factor VIII Inhibitors – Twenty years ‘Bonn Protocol’. *Vox Sang* 1996; 70: 30-35

Brown TM, Lee WC, Joshi AV, Pashos CL. Health-related quality of life and productivity impact in haemophilia patients with inhibitors. *Haemophilia* 2009; 15: 911-917

Bullinger M, Von Mackensen S, Haemo-QoL Group. Quality of life in children and families with bleeding disorders. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25: 64-67

Bundesärztekammer, 2010: Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) 2010. <http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/RiliHaemotherapie2010.pdf> (Zugriffsdatum: 16.02.2011)

Damiano ML, Hutter JJ Jr. Immune tolerance for haemophilia patients with inhibitors: analysis of the western United States experience. The Tri-Regional Nursing Group. *Haemophilia* 2000; 6: 526-532

Castaman G, Mancuso ME, Giacomelli SH, Toso A, Santagostino E, Mannucci PM, Rodeghiero F. Molecular and phenotypic determinants of the response to desmopressin in adult patients with mild hemophilia A. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 1824-1831

Delignat S, Dasgupta S, André S, Navarrete AM, Kaveri SV, Bayry J, André MH, Chtourou S, Tellier Z, Lacroix-Desmazes S. Comparison of the immunogenicity of different therapeutic preparations of human factor VIII in the murine model of hemophilia A. *Haematologica* 2007; 92: 1423-1426

Dimichele DM. Immune tolerance therapy for factor VIII inhibitors: moving from empiricism to an evidence-based approach. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 143-150

Dimichele DM. Management of factor VIII inhibitors. *Int J Hematol* 2006; 83: 119-125

Dimichele DM. The North American Immune Tolerance Registry: contributions to the thirty-year experience with immune tolerance therapy. *Haemophilia* 2009; 15: 320-328

Dimichele DM, Hay CR. The international immune tolerance study: a multicenter prospective randomized trial in progress. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2271-2273

DiMichele DM, Hoots WK, Pipe SW, Rivard GE, Santagostino E. International workshop on immune tolerance induction: consensus recommendations. *Haemophilia* 2007; 13: 1-22

DiMichele DM, Kroner BL. Analysis of the North American Immune Tolerance Registry (NAITR) 1993-1997: current practice implications. ISTH Factor VIII/IX Subcommittee Members. *Vox Sang* 1999; 77: 31-32

DiMichele DM, Kroner BL, North American Immune Tolerance Study Group. The North American Immune Tolerance Registry: practices, outcomes, outcome predictors. *Thromb Haemost* 2002; 87: 52-57

Dolan G. The challenge of an ageing haemophilic population. *Haemophilia* 2010; 16: 11-16

Ehrenforth S, Kreuz W, Scharrer I, Linde R, Funk M, Güngör T, Krackhardt B, Kornhuber B. Incidence of development of factor VIII and factor IX inhibitors in haemophiliacs. *Lancet* 1992; 339: 594-598

Franchini M. Plasma-derived versus recombinant Factor VIII concentrates for the treatment of haemophilia A: recombinant is better. *Blood Transfus* 2010; 8: 292-296

Ghio M, Contini P, Ottonello L, Arduino N, Gringeri A, Indiveri F, Dallegri F, Puppo F. Effect of clotting factors concentrates on lymphocyte and neutrophil function in vitro. *Thromb Haemost* 2003; 89: 365-373

Gilles JG, Desqueper B, Lenk H, Vermynen J, Saint-Remy JM. Neutralizing antiidiotypic antibodies to factor VIII inhibitors after desensitization in patients with hemophilia A. *J Clin Invest* 1996; 97: 1382-1388

Gilles JG, Grailly SC, De Maeyer M, Jacquemin MG, VanderElst LP, Saint-Remy JM. In vivo neutralization of a C2 domain-specific human anti-Factor VIII inhibitor by an anti-idiotypic antibody. *Blood* 2004; 103: 2617-2623

Goudemand J, Rothschild C, Demiguel V, Vinciguerratt C, Lambert T, Chambost H, Borel-Derlon A, Claeysens S, Laurian Y, Calvez T; FVIII-LFB and Recombinant FVIII study groups. Influence of the type of factor VIII concentrate on the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A. *Blood* 2006; 107: 46-51

Gouw SC, van der Bom JG, Auerswald G, Ettinghausen CE, Tedgård U, van den Berg HM. Recombinant versus plasma-derived factor VIII products and the development of inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A: the CANAL cohort study. *Blood* 2007 a; 109: 4693-4697

Gouw SC, van der Bom JG, van den Berg HM. Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study. *Blood* 2007 b; 109: 4648-4654

Grimes DA, Schulz KF. Cohort studies: marching towards outcomes. *Lancet* 2002; 359: 341-345

Gringeri A. VWF/FVIII concentrates in high-risk immunotolerance: the RESIST study. *Haemophilia* 2007; 13: 73-77

Gringeri A, Mantovani LG, Scalone L, Mannucci PM, COCIS Study Group. Cost of care and quality of life for patients with hemophilia complicated by inhibitors: the COCIS Study Group. *Blood* 2003; 102: 2358-2363

Hausl C, Ahmad RU, Sasgary M, Doering CB, Lollar P, Richter G, Schwarz HP, Turecek PL, Reipert BM. High-dose factor VIII inhibits factor VIII-specific memory B cells in hemophilia A with factor VIII inhibitors. *Blood* 2005; 106: 3415-3422

Hay CR. Factor VIII inhibitors in mild and moderate-severity haemophilia A. *Haemophilia* 1998; 4: 558-563

Hay CR, Baglin TP, Collins PW, Hill FG, Keeling DM. The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization (UKHCDO). *Br J Haematol* 2000; 111: 78-90

Hay CR, Brown S, Collins PW, Keeling DM, Liesner R. The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organisation. *Br J Haematol* 2006; 133: 591-605

Hay CR, Dimichele DM. The principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison. *Blood* 2012; 119: 1335-1344

Haya S, López MF, Aznar JA, Batlle J, Spanish Immune Tolerance Group. Immune tolerance treatment in haemophilia patients with inhibitors: the Spanish Registry. *Haemophilia* 2001; 7: 154-159

Haya S, Moret A, Cid AR, Cortina V, Casaña P, Cabrera N, Aznar JA. Inhibitors in haemophilia A: current management and open issues. *Haemophilia* 2007; 13: 52-60

Heijnen L. The role of rehabilitation and sports in haemophilia patients with inhibitors. *Haemophilia* 2008; 14: 45-51

Helmer RE 3rd, Alperin JB, Yunginger JW, Grant JA. Anaphylactic reactions following infusion of factor VIII in a patient with classic hemophilia. *Am J Med*. 1980; 69: 953-957

Holt PG, Jones CA. The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy* 2000; 55: 688-697

Hoots WK. Urgent inhibitor issues: targets for expanded research. *Haemophilia* 2006; 12: 107-113

Jacquemin MG, Desqueper BG, Benhida A, Elst LV, Hoylaerts MF, Bakkus M, Thielemans K, Arnout J, Peerlinck K, Gilles JGG, Vermynen J, Saint-Remy JMR. Mechanism and Kinetics of Factor VIII Inactivation: Study With an IgG4 Monoclonal Antibody Derived From a Hemophilia A Patient With Inhibitor. *Blood* 1998; 92: 496-506

Jover-Cerveró A, Poveda Roda R, Bagán JV, Jiménez Soriano Y. Dental treatment of patients with coagulation factor alterations: an update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007; 12: 380-387

Kadar JG, Schuster J, Hunzelmann N. IgE-mediated anaphylactic reaction to purified and recombinant factor VIII in a patient with severe haemophilia A. *Haemophilia* 2007; 13: 104-105

Kempton CL, White GC. How we treat a hemophilia A patient with a factor VIII inhibitor. *Blood* 2009; 113: 11-17

Kessler CM. New perspectives in hemophilia treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005; 1: 429-435

Konkle BA, Ebbesen LS, Erhardtsen E, Bianco RP, Lissitchkov T, Rusen L, Serban MA. Randomized, prospective clinical trial of recombinant factor VIIa for secondary prophylaxis in hemophilia patients with inhibitors. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1904-1913

Kreuz W. The role of VWF for the success of immune tolerance induction. *Thromb Res* 2008; 122: 7-12

Kreuz W, Becker S, Lenz E, Martinez-Saguer I, Escuriola-Ettingshausen C, Funk M, Ehrenforth S, Auerswald G, Kornhuber B. Factor VIII inhibitors in patients with hemophilia A: epidemiology of inhibitor development and induction of immune tolerance for factor VIII. *Semin Thromb Hemost* 1995; 21: 382-389

Kreuz W, Ehrenforth S, Funk M, Auerswald G, Mentzer D, Joseph-Steiner J, Beeg T, Klarmann D, Scharrer I, Kornhuber B. Immune tolerance therapy in paediatric haemophiliacs with factor VIII inhibitors: 14 years follow up. *Haemophilia* 1995; 1: 24-32

Kreuz W, Escuriola Ettingshausen C, Auerswald G, Heidemann P, Kemkes-Matthes B, Schneppenheim R. Immune tolerance induction (ITI) in haemophilia A –patients with inhibitors – the choice of concentrate affecting success. *Haematologica* 2001; 86: 16–22

Kreuz W, Ettingshausen CE, Auerswald G, Saguer IM, Becker S, Funk M, Heller C, Klarmann D, Klingebiel T, GTH PUP Study Group. Epidemiology of inhibitors and current treatment strategies. *Haematologica* 2003; 88: EREP04

Kroner BL. Comparison of the international immune tolerance registry and the North American immune tolerance registry. *Vox Sang* 1999; 77: 33-37

Kurczynski EM, Penner JA. Activated Prothrombin Concentrate for Patients with Factor VIII Inhibitors. *N Engl J Med* 1974; 291: 164-167

Lafeber FP, Miossec P, Valentino LA. Physiopathology of haemophilic arthropathy. *Haemophilia* 2008; 14: 3-9

Lannoy N, Hermans C. The 'royal disease'--haemophilia A or B? A haematological mystery is finally solved. *Haemophilia* 2010; 16: 843-847

Lauroua P, Ferrer AM, Guérin V. Successful major and minor surgery using factor VIII inhibitor bypassing activity in patients with haemophilia A and inhibitors. *Haemophilia* 2009; 15: 1300-1307

Lee CA. The best of times, the worst of times: a story of haemophilia. *Clin Med* 2009; 9: 453-458

Leissinger CA, Becton DL, Ewing NP, Valentino LA. Prophylactic treatment with activated prothrombin complex concentrate (FEIBA) reduces the frequency of bleeding episodes in paediatric patients with haemophilia A and inhibitors. *Haemophilia* 2007; 13: 249-255

Lenk H, ITT Study Group. The German Registry of immune tolerance treatment in hemophilia--1999 update. *Haematologica* 2000; 85: 45-47

Ljung R, Lindgren AC, Petrini P, Tengborn L. Normal vaginal delivery is to be recommended for haemophilia carrier gravidae. *Acta Paediatr* 1994; 83: 609-611

Lorenzo JI, López A, Altisent C, Aznar JA. Incidence of factor VIII inhibitors in severe haemophilia: the importance of patient age. *Br J Haematol* 2001; 113: 600-603

Makris M. Systematic review of the management of patients with haemophilia A and inhibitors. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004; 15: 25-27

Mancuso ME, Mannucci PM, Sartori A, Agliardi A, Santagostino E. Feasibility of prophylaxis and immune tolerance induction regimens in haemophilic children using fully implantable central venous catheters. *Br J Haematol* 2008; 141: 689-695

Mannucci PM. Hemophilia and Related Bleeding Disorders: A Story of Dismay and Success. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2002: 1-9

Mariani G, Ghirardini A, Bellocco R. Immune tolerance in hemophilia-principal results from the International Registry. Report of the factor VIII and IX Subcommittee. *Thromb Haemost* 1994; 72: 155-158

Mariani G, Kroner B. Immune tolerance in hemophilia and inhibitors: a cost analysis. *Transfusion* 2000; 40: 495-496

Mariani G, Kroner B, Immune tolerance study group (ITSG). Immune tolerance in hemophilia with factor VIII inhibitors: predictors of success. *Haematologica* 2001; 86: 1186-1193

Meili EO. Congenital deficiencies of coagulation factors and acquired inhibitors leading to bleeding disorders. *Hamostaseologie* 2004; 24: 221-233

Morfini M, Haya S, Tagariello G, Pollmann H, Quintana M, Siegmund B, Stieltjes N, Dolan G, Tusell J. European study on orthopaedic status of haemophilia patients with inhibitors. *Haemophilia* 2007; 13: 606-612

Murphy SL, High KA. Gene therapy for haemophilia. *Br J Haematol* 2008; 140: 479-487

Négrier C, Goudemand J, Sultan Y, Bertrand M, Rothchild C, Lauroua P and the French FEIBA Study Group. Multicenter retrospective study on the utilization of FEIBA in France in patients with factor VIII and factor IX inhibitors. *Thromb Haemost* 1997; 77: 1113-1119

Nilsson IM. Haemophilia – then and now. *Sydsven Medicinhist Sallsk Arsskr* 1994; 31: 33-52

Oldenburg J, Dolan G, Lemm G. Haemophilia care then, now and in the future. *Haemophilia* 2009; 15: 2-7

Oldenburg J, Schröder J, Brackmann HH, Müller-Reible C, Schwaab R, Tuddenham E. Environmental and genetic factors influencing inhibitor development. *Semin Hematol* 2004; 41: 82-88

Oldenburg J, Schwaab R, Brackmann HH. Induction of immune tolerance in haemophilia A inhibitor patients by the 'Bonn Protocol': predictive parameter for therapy duration and outcome. *Vox Sang* 1999; 77: 49-54



Oldenburg J, Schröder J, Graw J, Ivaskevicius V, Brackmann HH, Schramm W, Müller CR, Seifried E, Schwaab R. Significance of mutation analysis in patients with haemophilia A. *Hamostaseologie* 2003; 23: 6-12

Plug I, Mauser-Bunschoten EP, Bröcker-Vriends AHJT, van Amstel HKP, van der Bom JG, van Diemen-Homan JEM, Willemse J, Rosendaal FR. Bleeding in carriers of hemophilia. *Blood* 2006; 108: 52-56

Pool JG, Gershgold EJ, Pappenhagen AR. High-potency antihemophilic factor concentrate prepared from cryoglobulin precipitate. *Nature* 1964; 203: 312

Bundesärztekammer, 2011: Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten, 4. Auflage 2008.

[http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/Querschnittsleitlinie\\_4.\\_Auflage\\_05.01.2011.pdf](http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/Querschnittsleitlinie_4._Auflage_05.01.2011.pdf) (Zugriffsdatum: 06.11.2011)

Quintana-Molina M, Martínez-Bahamonde F, González-García E, Romero-Garrido J, Villar-Camacho A, Jiménez-Yuste V, Fernández-Bello I, Hernández-Navarro F. Surgery in hemophilic patients with inhibitor: 20 years of experience. *Haemophilia* 2004; 10: 30-40

Reipert BM, van Helden PM, Schwarz HP, Hausl C. Mechanisms of action of immune tolerance induction against factor VIII in patients with congenital hemophilia A and factor VIII inhibitors. *Br J Haematol* 2007; 136: 12-25

Rocino A, Papa ML, Salerno E, Capasso F, Miraglia E, de Biasi R. Immune tolerance induction in hemophilia A patients with high-responding inhibitors to factor VIII: experience at a single institution. *Haemophilia* 2001; 7: 33-38

Rocino A, Santagostino E, Mancuso ME, Mannucci PM. Immune tolerance induction with recombinant factor VIII in hemophilia A patients with high responding inhibitors. *Haematologica* 2006; 91: 558-561

Saenko EL, Scandella D. A mechanism for inhibition of factor VIII binding to phospholipid by von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1995; 270: 13826-13833

Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 2008; 133: 775-787

Santagostino E, Gringeri A, Berardinelli L, Beretta C, Muça-Perja M, Mannucci PM. Long-term safety and feasibility of arteriovenous fistulae as vascular accesses in children with haemophilia: a prospective study. *Br J Haematol* 2003; 123: 502-506

Scalone L, Mantovani LG, Mannucci PM, Gringeri A, COCIS Study Investigators. Quality of life is associated to the orthopaedic status in haemophilic patients with inhibitors. *Haemophilia* 2006; 12: 154-162

Scandella DH. Properties of anti-factor VIII inhibitor antibodies in hemophilia A patients. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 137-142

Schwaab R, Brackmann HH, Meyer C, Seehafer J, Kirchgesser M, Haack A, Olek K, Tuddenham EG, Oldenburg J. Haemophilia A: mutation type determines risk of inhibitor formation. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1402-1406

Siggs OM, Makaroff LE, Liston A. The why and how of thymocyte negative selection. *Curr Opin Immunol* 2006; 18: 175-183

Steele M, Cochrane A, Wakefield C, Stain AM, Ling S, Blanchette V, Gold R, Ford-Jones L. Hepatitis A and B immunization for individuals with inherited bleeding disorders. *Haemophilia* 2009; 15: 437-447

Streif W, Escuriola Ettingshausen C, Linde R, Kropshofer G, Zimmerhackl LB, Kreuz W. Inhibitor treatment by rituximab in congenital haemophilia A - Two case reports. *Hamostaseologie* 2009; 29: 151-154

Tabor E. The epidemiology of virus transmission by plasma derivatives: clinical studies verifying the lack of transmission of hepatitis B and C viruses and HIV type 1. *Transfusion* 1999; 39: 1160-1168

Tang Q, Bluestone JA. Regulatory T-cell physiology and application to treat autoimmunity. *Immunol Rev* 2006; 212: 217-237

Tellier Z, André MH, Polack B. Management of haemophilia A-inhibitor patients: clinical and regulatory perspectives. *Clin Rev Allergy Immunol* 2009; 37: 125-134

Thompson AR. Structure and function of the factor VIII gene and protein. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29: 11-22

Troisi CL, Hollinger FB, Hoots WK, Contant C, Gill J, Ragni M, Parmley R, Sexauer C, Gomperts E, Buchanan G. A multicenter study of viral hepatitis in a United States hemophilic population. *Blood* 1993; 81: 412-418

Tuddenham EGD, Schwaab R, Seehafer J, Millar DS, Gitschier J, Higuchi M, Bidichandani S, Connor JM, Hoyer LW, Yoshioka A, Peake IR, Olek K, Kazazian HH, Lavergne JM, Giannelli F, Antonarakis SE, Cooper DN. Haemophilia A: database of nucleotide substitutions, deletions, insertions and rearrangements of the factor VIII gene, second edition. *Nucleic Acids Res* 1994; 22: 3511-3533

Valentino LA, Hakobyan N, Enockson C. Blood-induced joint disease: the confluence of dysregulated oncogenes, inflammatory signals, and angiogenic cues. *Semin Hematol* 2008; 45: 50-57

Van Den Berg HM, Fischer K, Roosendaal G, Mauser-Bunschoten EP. The use of the Port-A-Cath in children with haemophilia--a review. *Haemophilia* 1998; 4: 418-420

Van Meegeren M. Update on pathogenesis of the bleeding joint: an interplay between inflammatory and degenerative pathways. *Haemophilia* 2010; 16: 121-123

Verbruggen B, van Heerde WL, Laros-van Gorkom BA. Improvements in factor VIII inhibitor detection: From Bethesda to Nijmegen. *Semin Thromb Hemost* 2009; 35: 752-759

Vehar GA, Keyt B, Eaton D, Rodriguez H, O'Brien DP, Rotblat F, Oppermann H, Keck R, Wood WI, Harkins RN, Tuddenham EGD, Lawn RM, Capon DJ. Structure of human Factor VIII. *Nature* 1984; 312: 337-342

White GC 2nd, Kempton CL, Grimsley A, Nielsen B, Roberts HR. Cellular immune responses in hemophilia: why do inhibitors develop in some, but not all hemophiliacs? *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1676-1681

White GC 2nd, Rosendaal F, Aledort LM, Lusher JM, Rothschild C, Ingerslev J. Factor VIII and Factor IX Subcommittee. Definitions in hemophilia. Recommendation of the scientific subcommittee on factor VIII and factor IX of the scientific and standardization committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 2001; 85: 560

Zeitler H, Merzenich GU, Hess L, Konsek E, Unkrig C, Walger P, Vetter H, Brackmann HH. Treatment of acquired hemophilia by the Bonn-Malmö Protocol: documentation of an in vivo immunomodulating concept. *Blood* 2005; 105: 2287-2293

## **8. Danksagungen**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. J. Oldenburg für die Unterstützung in meinem medizinisch-wissenschaftlichen Werdegang, für die ausgezeichnete Betreuung dieser Arbeit und für die Überlassung dieses spannenden Dissertationsthemas.

Desweiteren möchte ich mich auch bei Herrn Dr. H.H. Brackmann bedanken, der mit seiner großen Erfahrung auf dem Gebiet der Hämophilie diese Arbeit mit vielen wichtigen Aspekten bereichern konnte.

Dr. T. Albert möchte ich für die geduldige Betreuung meiner Arbeit und der Unterstützung in der Datenerhebung recht herzlich danken.

Abschließend möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Bonner Hämophilie-Ambulanz für die gute Zusammenarbeit während meiner Datenerhebung bedanken.